# Energetische stoffen en zware metalen in schelpdiervlees bij munitiestort Gat van Zierikzee

J.W.M. Wijsman, M.J.J. Kotterman, C.J.A.F. Kwadijk

Rapport C040/15 - Vertrouwelijk



IMARES Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever: Ministerie van Defensie, Dienst Vastgoed Directie Zuid
Spoorlaan 175
5038 CB Tilburg

Publicatiedatum: 4 maart 2015

**IMARES** is:

- Missie IMARES: *To explore the potential of marine nature to improve the quality of life.*
- IMARES is hét Nederlandse instituut voor toegepast marien ecologisch onderzoek met als doel kennis vergaren van en advies geven over duurzaam beheer en gebruik van zee- en kustgebieden.
- IMARES is onafhankelijk en wetenschappelijk toonaangevend.

Aanbevolen format ten behoeve van citaties: Wijsman, J.W.M., M.J.J. Kotterman en C.J.A.F. Kwadijk (2015) Energetische stoffen en zware metalen in schelpdiervlees bij munitiestort Gat van Zierikzee. IMARES Rapport C040/15.


P.O. Box 68
1970 AB IJmuiden
Phone: +31 (0)317 48 09 00
Fax: +31 (0)317 48 73 26
E-Mail: imares@wur.nl
www.imares.wur.nl

P.O. Box 77
4400 AB Yerseke
Phone: +31 (0)317 48 09 00
Fax: +31 (0)317 48 73 59
E-Mail: imares@wur.nl
www.imares.wur.nl

P.O. Box 57
1780 AB Den Helder
Phone: +31 (0)317 48 09 00
Fax: +31 (0)223 63 06 87
E-Mail: imares@wur.nl
www.imares.wur.nl

P.O. Box 167
1790 AD Den Burg Texel
Phone: +31 (0)317 48 0900
Fax: +31 (0)317 48 73 62
E-Mail: imares@wur.nl
www.imares.wur.nl





IMARES, onderdeel van Stichting DLO.
KvK nr. 09098104,
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16.
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285





A_4_3_1-V14.2

## Inhoudsopgave

# Samenvatting

In de zomer van 2014 zijn er door professionele duikers Japanse oesters verzameld van drie locaties op de munitiestort Gat van Zierikzee. Tevens zijn tijdens laagwater oesters verzameld op een referentielocatie (Noordbout) op een droogvallende oesterbank in de buurt. In deze oesters is onderzocht of deze schelpdieren zware metalen en energetische stoffen bevatten die mogelijk zijn vrijgekomen uit de munitie die er na de Tweede Wereldoorlog is gestort. De oesters kunnen worden beschouwd als worst-case voor mosselen die worden gekweekt op nabijgelegen kweekpercelen. We willen vaststellen of de mosselen de uit de munitie vrijgekomen stoffen (zware metalen en energetische stoffen) opnemen waardoor de concentraties zo hoog worden dat dit leidt tot ecologische effecten (sterfte, verminderde groei of reproductie) en/of humane risico's als de mosselen worden opgegeten.

Op basis van de resultaten van deze studie is geconcludeerd dat op het oog de bodemdiergemeenschap van de munitiestort niet zichtbaar is aangetast door de munitie. De zeebodem ter plekke van de munitiestort is rijk aan leven en organismen hechten zich aan de harde substraten die her en der verspreid liggen. Er liggen weinig mosselen op de bezochte locaties, wat niet vreemd is voor een locatie buiten de mosselkweekpercelen in de Oosterschelde, maar er liggen wel verspreid over de zeebodem solitaire Japanse oesters.

De concentraties zware metalen in het vlees van deze oesters zijn over het algemeen niet hoger dan eerder is gevonden op de nabijgelegen locatie Zeelandbrug en de referentielocatie Noordbout. Alleen de concentraties koper in het oestervlees is hoger (< factor 2) in de munitiestort dan op de referentie en de Zeelandbrug.

Op basis van gemeten waterconcentraties uit 2001 en de in de literatuur gerapporteerde bioconcentratiefactoren voor de energetische stoffen is een inschatting gemaakt van de verwachte concentraties in het schelpdiervlees. Deze berekende concentraties lagen onder or rond de gerapporteerde detectielimiet van 5-10 µg $kg^{-1}$ oestervlees. Alleen als voor de concentraties in het water een worst-case situatie wordt aangenomen (alle energetische stoffen komen vrij in het water binnen een periode van 30 jaar), kunnen concentraties van bepaalde energetische stoffen (TNT bijvoorbeeld) hoger dan de detectielimiet worden verwacht.

Naast deze eerste inschatting zijn de gehalten aan energetische stoffen in de oesters ook geanalyseerd. Het vlees van de oesters, verzameld van de munitiestortplaats en van een controlelocatie, is geëxtraheerd voor de analyse van energetische stoffen. Omdat de chemische eigenschappen van de TNT-achtige stoffen en RDX/HMX verschillen zijn twee aparte extracties met een ander oplosmiddel gebruikt. Deze extracten zijn d.m.v. kolom chromatografie ontdaan van vet en daarna ter analyse opgestuurd. Een deel van de extracten zijn apart gespiked met energetische stoffen om te controleren of de analyse goed verloopt. In het laboratorium konden geen energetische stoffen worden aangetoond boven de detectielimiet (5-10 µg $kg^{-1}$ oestervlees) in het extract van de stortplaats, maar ook de gespikte extracten bevatten concentraties beneden de detectielimiet. Ter controle zijn daarom nieuwe extracten gemaakt, die na een zeer beperkte voorbewerking op het laboratorium van Wartig chemieberatung GmbH in Duitsland, zijn gemeten. Uit deze extra analyses bleek dat in de extracten (opgewerkt of niet) geen stoffen zitten die de analyse storen, dat de ruwe extracten geen energetische stoffen bevatten, dat de spike oplossingen van het laboratorium van Wartig wel goed meetbaar waren in het oester-extract en dat de spike oplossing van IMARES veel lagere concentraties bevat dan berekend. De conclusie is dat de oesters, verzameld bij de munitiestort, niet detecteerbare concentraties energetische stoffen bevatten.

De oesters van de munitiestort Gat van Zierikzee kunnen worden beschouwd als een worst-case situatie voor de mosselen op de nabijgelegen mosselpercelen. Aangezien in de verzamelde oesters geen verhoogde concentraties aan zware metalen en energetische stoffen zijn aangetroffen, afkomstig van de munitiestort, zijn deze ook niet te verwachten in het mosselvlees op de nabijgelegen kweekpercelen. De concentraties zware metalen en energetische stoffen zijn lager dan risiconiveaus voor de ecologie en voor humane voedselveiligheid.

# 1 Inleiding

## 1.1 Achtergrond

Na de Tweede Wereldoorlog, in de periode 1945 tot en met 1967 is er 30.000 ton overtollige munitie in de Oosterschelde gestort in de munitiestortplaats Gat van Zierikzee (Van Ham e.a., 2002). De vraag is of deze stortplaats effecten heeft op de mosselkweek in de Oosterschelde. In potentie kunnen zware metalen en energetische stoffen uit de stortplaats vrijkomen in het zeewater. De mosselen van de nabijgelegen kweekpercelen zouden deze stoffen kunnen opnemen, waardoor er ecologische effecten en/of humane risico's door mosselconsumptie kunnen optreden. Op 24 oktober 2013 zijn er door de SP Kamervragen gesteld over de risico's van de munitiestortplaats in de Oosterschelde. In reactie op deze Kamervragen heeft de minister van Defensie toezegging gedaan dat er in 2014 onderzoek zal worden gedaan naar de aanwezigheid van energetische stoffen en zware metalen in het mosselvlees bij de munitiestortplaats Gat van Zierikzee (Hennis-Plasschaert, 2013). Het ministerie van Defensie heeft daarop IMARES gevraagd onderzoek te doen naar de aanwezigheid van deze stoffen in schelpdieren op deze locatie.

## 1.2 Doelstelling

Het doel van voorliggend rapport is inzicht te geven in (verhogingen van) concentraties zware metalen en energetische stoffen (organonitroverbindingen) in het vlees van schelpdieren van de munitiestort bij Zierikzee. Tevens zal er op basis van literatuuronderzoek een eerste inschatting worden gemaakt van de ecologische effecten en/of humane risico's van mosselconsumptie.

## 1.3 Aanpak

Op basis van door TNO berekende gehalten aan energetische stoffen in het zeewater en de bio-accumulatiefactor van deze stoffen in schelpdieren is eerst een expert inschatting gemaakt van concentraties aan energetische stoffen die er maximaal kunnen worden verwacht in het vlees van schelpdieren op de bodem van de munitiestort. Deze gehalten zijn waar mogelijk vergeleken met bestaande internationale normen.

Omdat er nog geen standaardmethode voorhanden is voor de extractie van energetische stoffen uit biologisch materiaal, is deze methode ontwikkeld op het IMARES laboratorium in IJmuiden. Hiervoor zijn oesters gebruikt die verzameld zijn op een referentielocatie in de Oosterschelde, op ruime afstand van de munitiestort.

Door professionele duikers zijn in de zomer van 2014 wilde Japanse oesters (*Crassostrea gigas*) verzameld van de zeebodem direct naast de munitiestort. De verwachting is dat deze oesters vanwege de hoge filtratiecapaciteit en hun ligging op de munitiestort kunnen worden beschouwd als een worst-case situatie voor de nabijgelegen mosselpercelen. Het vlees van de verzamelde oesters is geanalyseerd op concentraties aan zware metalen en energetische stoffen.

### 1.4 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 wordt een beschrijving gegeven van de munitiestortplaats Gat van Zierikzee en de munitie die er na de Tweede Wereldoorlog is gestort. Vervolgens is er beschreven hoe en wanneer de oesters door de duikers zijn verzameld en welke analyses er zijn uitgevoerd om de metalen en energetische stoffen te bepalen. In de resultaten (hoofdstuk 3) wordt eerst een ruwe inschatting gemaakt van de verwachte gehalten in het schelpdiervlees aan de hand van concentraties in het water en bioconcentratiefactoren. Vervolgens worden de resultaten van de analyses gegeven voor zowel de munitiestort als een referentielocatie. In hoofdstuk 4 worden de resultaten van deze studie vergeleken met andere studies en worden de resultaten vertaald naar de risico's voor nabijgelegen mosselpercelen.

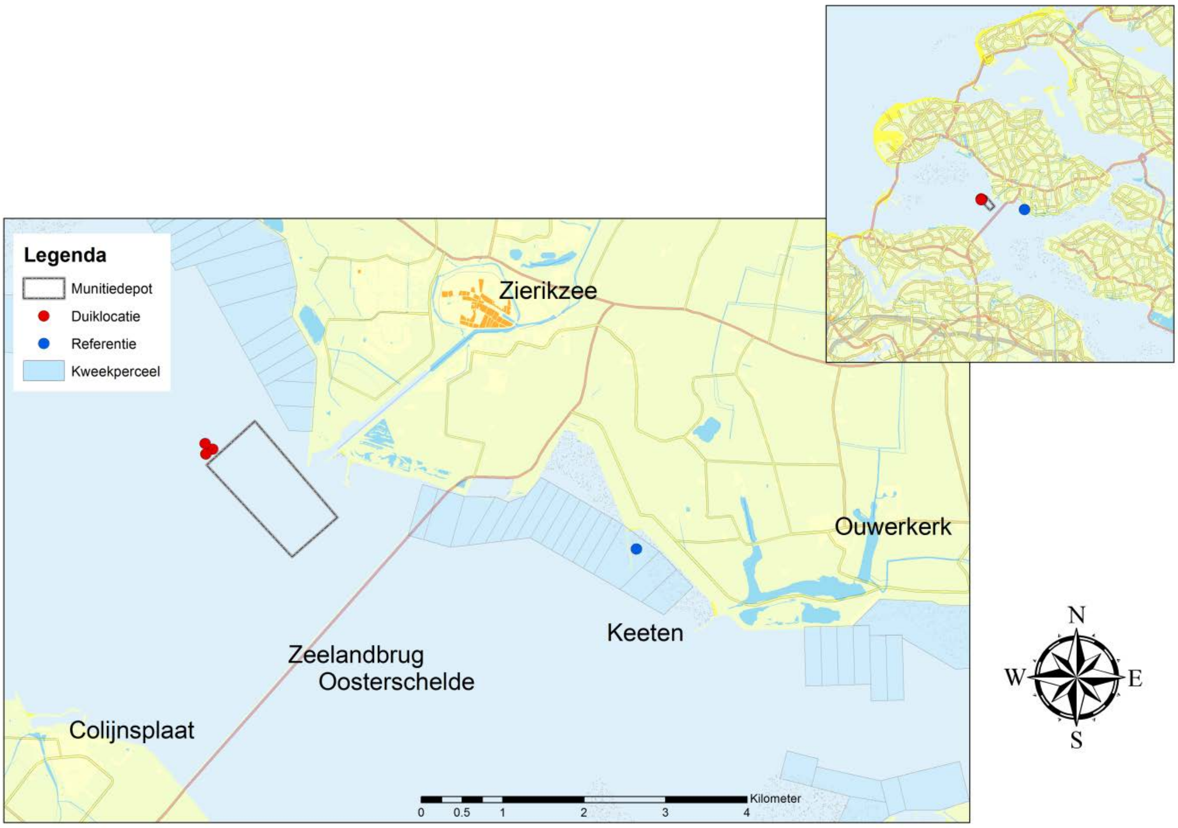
### 1.5 Dankwoord

De auteurs willen de duikers en de bemanning van N-shore bedanken voor hun professionele aanpak en flexibiliteit bij het verzamelen van de oesters. Henry Silooy van het Ministerie van Defensie was verantwoordelijk voor de projectbegeleiding en wordt bedankt voor de bruikbare tips bij de voorbereiding en tijdens uitvoering van dit onderzoek. We would also like to thank Dr. Hans Berstermann from Wartig (Germany) for analysing the samples on Nitroaromatics and Nitrimines. TNO Triskelion heeft de metalen in het oestervlees bepaald.

## 2 Materiaal en Methoden

### 2.1 Munitiestort

Na de Tweede Wereldoorlog is er munitie in zee gestort. De stortlocatie Gat van Zierikzee is een diepte put (>50 meter) in de Roompotgeul vlak voor het havenkanaal van Zierikzee (Figuur 1). Deze locatie is destijds gekozen vanwege de grote diepte en de goede bereikbaarheid voor de binnenvaartschepen. Op de stortlocatie Gat van Zierikzee is er, tussen 1945 en 1948 en tussen 1960 en 1967, 30.000 ton munitie gestort. In de periode 1945-1948 is er ca. 13.000 ton munitie verzameld vanuit heel Nederland en, na voorbewerking, gedumpt op de munitiestortplaats. Vervolgens is er in de periode 1960-1967 ca. 16.000 ton overjarige Engelse munitie gestort (Van Ham en Duvalois, 1999). Van de 30.000 ton is bijna 9.000 ton kruit, springstof en pyrotechniek en 21.000 ton bestaat uit metalen, waarvan 16.000 ton ijzer, 2.500 ton lood, 1.230 ton koper, 660 ton zink en 750 ton aluminium (Van Eck e.a., 2001; Van Ham e.a., 2001b). De 9.000 ton aan explosieve inhoud bestaat uit milieuvreemde (an)organische microverontreinigingen of afbraakproducten daarvan, waaronder Nitrocellulose (8.160 ton), Dinitrotolueen (471 ton), Trinitrotolueen (5.940 ton), RDX (330 ton) en witte fosfor (60 ton) (Van Ham e.a., 2001b).




*Figuur 1: Overzicht van de ligging van de munitiestortplaats Gat van Zierikzee voor het havenkanaal van Zierikzee in de Oosterschelde. In de figuur zijn tevens de bemonsteringslocaties (rode stippen) en de referentielocatie (blauwe stip) aangegeven. De blauwe vlakken geven de mosselkweekpercelen weer.*

De huidige contouren van de munitiestortplaats (volgens de zeilkaart) heeft een oppervlakte van 119 ha (1.550 x 770 meter) (Figuur 1). Binnen dit gebied is het verboden te ankeren of te vissen met sleepnetten.

## 2.2 Voorgaande monitoring in de munitiestort

In 1999 is de verspreiding van de munitie in de munitiestort in kaart gebracht door middel van sonar en visuele inspectie met een ROV (Van Ham en Duvalois, 1999). Uit deze inspectie blijkt dat de munitie zeer verspreid is binnen de stortplaats, maar ook daarbuiten. Het meeste van de munitie is aangetroffen in het noordwestelijk deel van de stortplaats (Figuur 3). Deels komt dit omdat het diepste deel van de put zich recht voor de ingang van het havenkanaal bevindt. Veelal is de munitie handmatig over boord gezet. Omdat de schepen tijdens het dumpen de haven van Zierikzee zouden blokkeren is er voornamelijk ten noorden en ten zuiden van het diepste punt gestort. Omdat er soms problemen waren met het afzinken van de munitiekisten werden deze soms verzwaard of lekgemaakt zodat deze sneller naar de bodem zonken (Van Ham en Duvalois, 1999). Door vissers is er beroepsmatig gevist met sleepnetten op de munitiestortplaats. Regelmatig zijn daarbij munitieresten opgevist die weer overboord zijn gezet. Als gevolg hiervan is de munitie verder verspreid en bevindt zich grotendeels begraven onder het zand (Van Ham en Duvalois, 1999). Ook is er munitie aangetroffen buiten de gemarkeerde stortplaats. De diepte waar de munitie is aangetroffen bedraagt ca 25 – 45 meter beneden NAP (Van Ham e.a., 2002).

Uit de visuele inspecties (Van Ham en Duvalois, 1999) is gebleken dat de munitie flink is aangetast door het zeewater waardoor er schadelijke stoffen in het milieu terecht kunnen komen. Sommige van deze vrijkomende stoffen kunnen bij te hoge concentraties schade toebrengen aan het milieu. Er zijn in het verleden reeds diverse studies uitgevoerd naar het vrijkomen van stoffen uit de munitie bij de munitiestort Gat van Zierikzee (Van Ham en Duvalois, 1999; Van Eck e.a., 2001; Van Ham e.a., 2001a; Van Ham e.a., 2001b; Van Ham e.a., 2002; Van Ham e.a., 2004). In twee grondmonsters die zijn verzameld op de munitiestortplaats is dititrotolueen en difenylamine aangetroffen in een concentratie van 3 ppm (3 mg $kg^{-1}$). Ook zijn er in deze grondmonsters verhoogde concentraties van metalen aangetroffen zoals koper, zink en lood (Van Ham en Duvalois, 1999). In 1999 zijn er door duikers diverse duiken uitgevoerd op de munitiestort. Tijdens deze duiken zijn er weinig levende mosselen aangetroffen door de duikers. Wel is er melding gemaakt van de aanwezigheid van levende oesters.

In 2001 zijn opnieuw monsters genomen van water en de waterbodem (Van Ham e.a., 2002). De analyses lieten zien dat de concentraties van munitie-gerelateerde stoffen zeer laag zijn. TNT concentraties in het water zaten tussen 0,01 en 0,5 ppb (µg $l^{-1}$). Witte fosfor kon niet worden aangetoond. Koper en zink werden gemeten in verhoogde concentraties. Tevens zijn er in 2001 bioassays uitgevoerd met mosselen die gedurende een periode van zes weken boven het munitiedepot en op twee referentielocaties zijn uitgehangen. Er waren geen duidelijke verschillen te zien in de concentraties van schadelijke stoffen tussen de monsters op het munitiedepot en de referenties (Van Ham e.a., 2002).

In 2003 zijn er nogmaals monsters genomen van de waterbodem en bodemdieren op de munitiestortplaats (Van Ham e.a., 2004). De aangetroffen concentraties waren vergelijkbaar met 2001. In deze studie is er ook gekeken naar eventuele effecten van de munitiestort op de bodemdiersamenstelling, maar dat kon niet worden aangetoond.

## 2.3 Verzamelen van de schelpdieren

### *2.3.1 Munitiedepot*

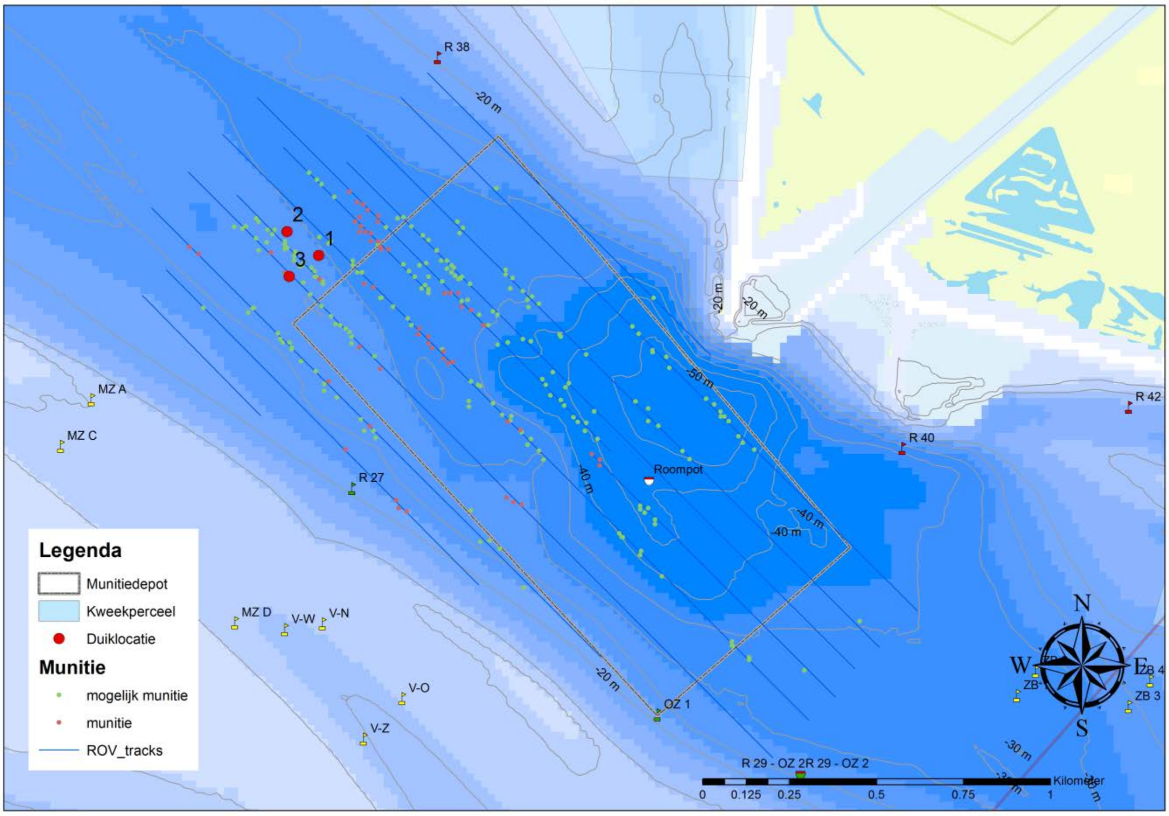
Op 19 mei en 12 juni 2014 zijn oesters verzameld door professionele duikers van N-sea uit Zierikzee. In totaal zijn er drie duiken uitgevoerd van 20, 75 en 80 minuten. De duiken zijn uitgevoerd vanaf het schip m.s. Neptunus. Omdat het verboden is om binnen het munitiedepot te ankeren is het schip voor anker gegaan (met 4 ankers rondom het schip) aan de noordwestrand van de munitiestortplaats. Uit de ROV tracks (Figuur 3) blijkt dat er ook in dit gebied munitie is aangetroffen.

Op alle drie de duiken zijn er verspreid over de zeebodem diverse patronen en munitiekistjes aangetroffen. Tijdens iedere duik heeft de duiker visueel gezocht naar levende schelpdieren, waarbij aan boord life kon worden meegekeken middels een camera op de helm van de duiker (Figuur 2). De camera-opnamen zijn opgeslagen.



*Figuur 2: Klaarmaken van de duiker voor zijn duik. Duidelijk te zien zijn de camera, lamp en communicatieapparatuur op de helm (foto H. Silooy).*

Tijdens de eerste twee duiken is geïnventariseerd welke levende schelpdieren er op de bodem van de munitiestort lagen. Tevens is er visueel gekeken welke overige organismen er zich op de bodem bevinden. Tijdens deze eerste twee duiken zijn een tweetal levende solitaire Japanse oesters (*Crassostrea gigas*) gevonden en één levende mossel (*Mytilus edulis*). Wilde mosselen komen slechts beperkt voor in de Oosterschelde. De meeste mosselen liggen op de kweekpercelen. Wilde Japanse oesters komen daarentegen wijdverspreid voor in de Oosterschelde (Wijsman e.a., 2008). Tijdens de derde duik (12 juni) is er specifiek gezocht naar levende Japanse oesters, en zijn alle aangetroffen Japanse oesters verzameld in een duikzak. Net als mosselen zijn Japanse oesters filterfeeders die grote hoeveelheden zeewater filtreren. Eén oester kan tot 12 liter water per uur filtreren (Troost, 2010). Doordat deze oesters al geruime tijd op de zeebodem liggen tussen de verspreid liggende munitie kan worden aangenomen dat deze oesters een “worst-case” situatie vertegenwoordigen. Bijlage A geeft een gedetailleerd overzicht van de drie duiken en de organismen die bij de duiken op de zeebodem zijn aangetroffen. De identificatie van deze soorten is gedaan door een marien bioloog van IMARES aan de hand van de life video beelden aan boord van het schip.




Figuur 3: *Detailkaart van de munitiestortplaats in de Oosterschelde. De grote genummerde rode stippen geven de 3 duiklocaties aan. Op de kaart is tevens de verspreiding van objecten aangegeven die in een eerdere studie (Van Ham en Duvalois, 1999) zijn aangetroffen met een ROV. De blauwe lijnen geven de raaien aan die met de ROV zijn afgelegd. De oranje stippen geven objecten aan die zijn geïdentificeerd als munitie en de groene stippen geven objecten die niet zijn geïdentificeerd als munitie, maar wat mogelijk wel munitie is. Op de kaart is tevens de vaarwegmarkering aangegeven.*

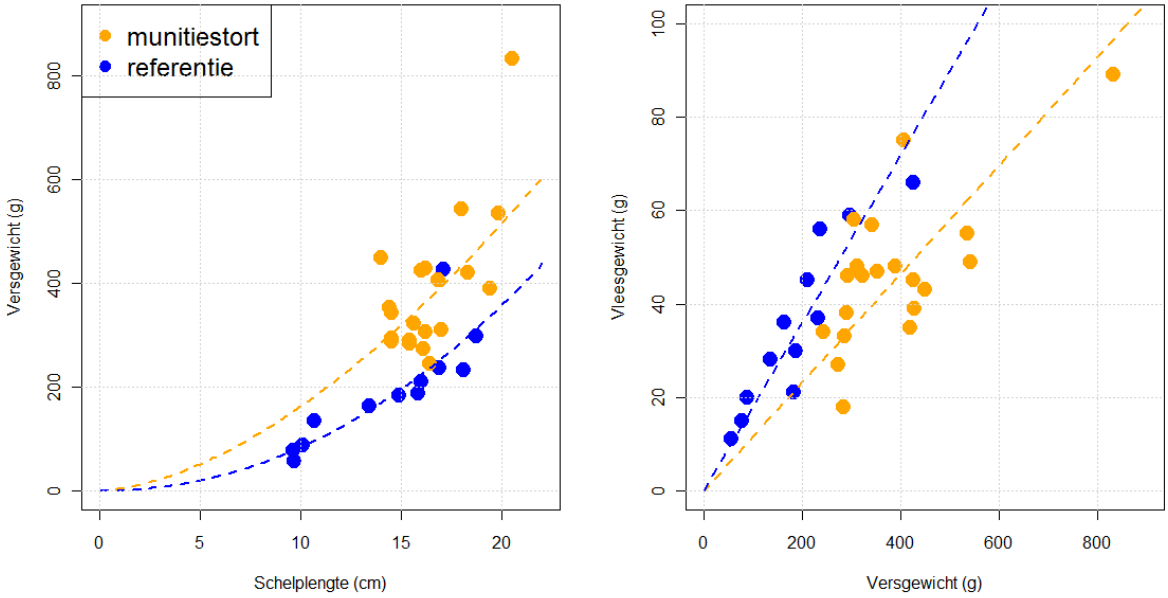
### *2.3.2 Referentielocatie*

Op 12 juni 2014 om 22:00 uur zijn tijdens laag water Japanse oesters verzameld op een referentielocatie bij de Noordbout tussen Zierikzee en Ouwerkerk (51°37,338′ N; 3°56,929' E), zie Figuur 1.

### *2.3.3 Overzicht van de verzamelde oesters*

In totaal zijn er 20 oesters verzameld op de munitiestortplaats Gat van Zierikzee op een waterdiepte van 23,5 meter en 12 oesters op de referentielocatie Noordbout (intergetijdengebied). De gemiddelde lengte van de oesters van de munitiestort is 16,45 cm (standaarddeviatie 1,9 cm). Op de referentielocatie waren de oesters iets kleiner (gemiddeld 14,25 cm; standaarddeviatie = 3,4 cm). Het versgewicht (incl. schelp) van de oesters die zijn verzameld op de munitiestort is ook groter (gemiddeld 387 gram versgewicht; standaarddeviatie = 135 gram) dan de oesters van de referentie (gemiddeld 191 gram; standaarddeviatie 103 gram). Het vleespercentage van de oesters van de munitiestort is 12%. Dit is een stuk lager dan het vleespercentage van de oesters van de referentie (18%) (Figuur 4). Waarschijnlijk zijn de oesters van het munitiedepot ouder en hebben daardoor een dikkere schelp. Ook kunnen de leef- en groeiomstandigheden anders zijn (litoraal versus sublitoraal) wat kan resulteren in een andere morfologie, waaronder een dikkere schelp.

De totale hoeveelheid oestervlees dat is verzameld op de munitiestort is 930 gram. De hoeveelheid oestervlees dat is verzameld op de referentielocatie is 424 gram.




*Figuur 4: Relatie tussen schelplengte (cm) en versgewicht (g)(links) en versgewicht (g) en vleesgewicht (g) (rechts) van de oesters die verzameld zijn op de Munitiestort (oranje) en het referentiegebied (blauw). De stippellijnen geven de regressielijnen. Er zijn power functies ($Y = a*X^b$) gefit door de lengte gewichtsrelatie en lineaire regressies door de versgewicht – vleesgewicht relatie.*

## 2.4 Analyse monsters

Een dag na het verzamelen van de oesters zijn deze vers aangeleverd bij het laboratorium van IMARES in IJmuiden. Het vlees is uit de schelp gehaald en daarna verzameld in twee gepoolde monsters. Een monster met oestervlees (930 gram) van de munitiestortplaats en een monster met oestervlees (424 gram) van de referentielocatie. In deze gepoolde monsters zijn de concentraties van zware metalen en energetische stoffen bepaald.

### *2.4.1 Ontwikkeling extractiemethodiek*

Voor de analyse van de energetische stoffen, de nitro-aromaten TNT, 2,4-DNT, 4A-DNT, 2-A-DNT, is de methode gebruikt zoals die is beschreven door het laboratorium dat de uiteindelijke extracten analyseert. 50 gram oestervlees is door IMARES in bewerking genomen. Deze bewerking bestaat uit een soxhlet extractie (continue extractie van het monster met hexaan gedurende 12 uur), indampen van het extract en daarna opzuiveren met een florisil kolom. In deze kolom wordt het geëxtraheerde vet samen met andere mogelijk infererende stoffen gescheiden van de energetische stoffen. Het gezuiverde extract wordt geconcentreerd tot 10 ml in tolueen en vervolgens gemeten met een GC-ECD.

Voor de beter wateroplosbare energetische stoffen, RDX en HMX, is door IMARES een nieuwe methode ontwikkeld. Deze is gebaseerd op de EPA 8330 methode en gebruikt een extractie met methanol, een minder apolair oplosmiddel, omdat deze stoffen slecht oplossen in het extractiemiddel hexaan. Hier wordt 10 gram van het monster in bewerking genomen en geëxtraheerd met behulp van een ultraturax.

Het extract wordt daarna aangevuld met demiwater totdat de concentratie methanol minder is dan 15%. Het extract wordt vervolgens gezuiverd over een C18 kolom. De energetische stoffen worden in eerste instantie vastgehouden op de C18 kolom waarna ze met pure methanol van de kolom af worden gespoeld. Hierdoor worden de stoffen gescheiden van het mee-geëxtraheerde vet en andere componenten. Na de opzuivering is het extract gedroogd en gefilterd over een glasfilter met natriumsulfaat. Vervolgens is het extract geconcentreerd tot een volume van 10 ml met Tolueen en Methanol.

De effectiviteit van de extractie en de zuivering met een kolom is bepaald door middel van toevoeging van TNT, RDX, HMX, 2A-DNT en 4A-DNT aan de oestermonsters op een niveau overeenkomstig met een concentratie van ongeveer 200 µg $kg^{-1}$ versgewicht. Terugvinding hiervan was goed (>70%), opwerking met kolom resulteerde uiteindelijk in een helder extract met een licht groengele tint.

Beide extracten zijn naar het laboratorium van Wartig Chemieberatung GmbH opgestuurd ter analyse.

### *2.4.2 Bepalingen*

De zware metalen zijn gemeten door Triskelion te Zeist. De methode bestaat uit ontsluiting van de metalen en analyse met behulp van ICP-MS. De gebruikte methode is volgens SOP TRIS/LSP/055, alle metalen behalve Barium zijn gerapporteerd met Q, volgens ISO/IEC 17025.

De energetische stoffen TNT, 2,4-DNT, 4A-DNT, 2-A-DNT zijn gemeten door Wartig Chemieberatung GmbH, Labor für Entwicklung und Analytik. Staatlich anerkannte Untersuchungsstelle für Abwasser, Klärschlamm und Trinkwasser Betrieblicher Umweltschutz. De methode bestaat uit een gaschromatografische scheiding en detectie met ECD (electron capture detection). De detectielimieten bedragen, bij de beschreven inweeg van monstermateriaal en eindvolume extract, voor alle componenten 5 µg $kg^{-1}$ vleesgewicht.

De meer polaire stoffen RDX en HMX zijn met HPLC (hoge druk vloeistof chromatografie) gescheiden en gedetecteerd met UV detectie. De detectielimieten bedragen, bij de beschreven inweeg van monstermateriaal en eindvolume extract, voor deze componenten 10 µg $kg^{-1}$ vleesgewicht.

Van monsters van de munitiestort en de referentielocatie is ook een deel apart geëxtraheerd en daarna gespiked met enkele energetische stoffen, TNT, RDX, HMX, 2A-DNT en 4A-DNT, op een beoogd laag concentratieniveau, overeenkomstig met ongeveer 30 µg $kg^{-1}$ vleesgewicht. Deze monsters worden als controle gebruikt om de analyseresultaten te verifiëren.

# 3 Resultaten

## 3.1 Inschatting verwachte gehalten

De munitie die in zee is gestort bestaat in het algemeen uit metaal, springstof, kruit en pytotechniek (Van Ham e.a., 2001a). De meest voorkomende metalen in munitie zijn ijzer, lood, koper, zink en aluminium. De springstof bestaat voor het merendeel uit trinitrotolueen (TNT), RDX, Tetryl en PETN. Kruit bestaat uit cellulosenitraat en andere energetische stoffen zoals nitroglicerine, dinitrotolueen. De pyrotechniek (zinkoxide, aluminium, Hexachoor ethaan, enz.) wordt gebruikt voor het genereren van rook, licht, brand en geluidseffecten. In deze paragraaf wordt er een eerste inschatting gemaakt van de te verwachten concentraties van metalen en energetische stoffen in het schelpdiervlees.

De munitie die is gestort in de zee zal op termijn degraderen en, afhankelijk van de chemische eigenschappen, oplossen in het milieu. In eerste instantie zullen de metalen omhulsels corroderen. Als deze delen voldoende in het zeewater zijn opgelost zullen geleidelijk de explosieve componenten vrijkomen en met het zeewater verspreid worden.

Door de getijdebeweging vindt er een menging en verspreiding plaats van in het water opgeloste en gesuspendeerde stoffen (Van Eck e.a., 2001). Het is de verwachting dat in het water oplosbare stoffen zich verspreiden en verdunnen met de getijdebeweging. De munitiestortplaats ligt in de buurt van commerciële mosselkweekpercelen (Figuur 3). De uit de munitie vrijkomende stoffen kunnen in potentie met de waterbeweging naar de percelen worden getransporteerd en door de mosselen worden opgenomen. Afhankelijk van de stof en het vermogen van het organisme om de stoffen te metaboliseren kan er accumulatie optreden waardoor de concentraties in het schelpdiervlees hoger zijn dan in het omliggende water. De concentratie van een verontreinigende stof in een mossel ($C_m$) kan worden berekend uit de concentratie in het water ($C_w$) en de bioconcentratie factor (*BFC*):

$$C_m = BFC * C_w$$

Waarbij $C_m$= de concentratie van een bepaalde stof in het mosselvlees (mg kg$^{-1}$ versgewicht), BFC is de bioconcentratiefactor (l kg$^{-1}$ versgewicht) en $C_w$ is de concentratie van de stof in het water (mg l$^{-1}$). De bioconcentratie factor geeft de verhouding weer tussen de concentratie in een organisme en de concentratie in het water.

Van Ham e.a. (2001b) geven een overzicht van bioconcentratie factoren voor een aantal metalen die gerelateerd zijn aan munitie (Tabel 1). Deze tabel is aangevuld met een aantal bioconcentratie factoren van energetische stoffen (Lotufo e.a., 2013). Uit deze tabel is af te lezen dat vooral stoffen als tin, chroom, zink en cadmium een hoge BCF waarde hebben en dus kunnen accumuleren in het mosselvlees. De BCF van energetische stoffen als 2,4,6-TNT, RDX, HMX en 2,4 DNT liggen een stuk lager, en worden dus veel minder geaccumuleerd in het schelpdiervlees dan de zware metalen.

In Van Ham e.a. (2001b) is een overzicht gegeven van de maximale gemeten concentraties van metalen in het water boven de munitiestort Gat van Zierikzee. De hoogste concentraties zijn gemeten voor koper en zink. De concentraties van de energetische stoffen lagen allen beneden de detectielimiet van de gehanteerde methode (<1 ppb). In 2001 zijn er nieuwe watermonsters op de munitiestortplaats genomen en geanalyseerd op specifieke munitiecomponenten met nieuwere technieken met lagere detectielimieten. De gemeten concentraties variëren tussen 0,02 - 0,1 µg l$^{-1}$ voor 2,4,6-TNT, 0,01 - 0.06 µg l$^{-1}$ voor 2A-DNT en 0,01 - 0,09 µg l$^{-1}$ voor 4A-DNT.

De concentraties van 2,4-DNT en hexachloorethaan waren beneden de detectielimiet (respectievelijk 0,01 en 0,1 µg $l^{-1}$) (Van Ham e.a., 2002). De concentraties van chroom, nikkel en cadmium waren op de munitiestortplaats significant hoger dan op referentielocaties in de buurt.

Door Rijkswaterstaat zijn verwachte maximale concentraties van deze stoffen in het water boven het munitiedepot berekend (Van Eck e.a., 2001). De aanname hierbij was dat de totale hoeveelheid aanwezige stof gedurende een periode van 30 jaar gelijkmatig vrijkomt. De berekende concentraties metalen waren doorgaans veel hoger dan gemeten hetgeen impliceert dat de door Rijkswaterstaat gehanteerde emissieduur van 30 jaar te kort is. De berekende maximale concentratie TNT, berekend door Rijkswaterstaat is 12,3 µg $l^{-1}$ (Van Eck e.a., 2001). Door Van Ham e.a. (2001b) is een berekening gemaakt van de te verwachten concentratie TNT in het water onder de aanname dat de 3.000 ton TNT over een periode van 500 jaar vrijkomt (aanzienlijk langer dan is aangenomen in de berekeningen van Rijkswaterstaat). Rekening houdend met een verblijftijd van 20 dagen (verversing van het water door getijdenbeweging) zou de gemiddelde concentratie in het water 0,4 ppb (µg $l^{-1}$) zijn.

In Tabel 1 is een overzicht gegeven van de berekende waarden van metalen en energetische stoffen in het mosselvlees aan de hand van de bioconcentratie factor en de gemeten of berekende concentraties in het water. De hoogste concentraties worden verwacht van zink (332 mg $kg^{-1}$ versgewicht), tin (119 mg $kg^{-1}$), koper (16,9 mg $kg^{-1}$ versgewicht) en chroom (4,8 mg $kg^{-1}$ versgewicht).

*Tabel 1: Berekening verwachte concentraties in schelpdiervlees (mg $kg^{-1}$ versgewicht). BCF waarden (l $kg^{1}$ versgewicht) van de metalen zijn afkomstig van Van Ham e.a. (2001b). BCF waarden van de energetische stoffen zijn afkomstig van Lotufo e.a. (2010). De maximale concentraties van de metalen zijn afkomstig van Van Ham e.a. (2001b). De maximale concentraties van de energetische stoffen zijn berekend door Van Eck e.a. (2001).*

| Stof | *BCF* (l $kg^{-1}$ versgewicht) | Maximale concentratie ($C_w$, µg $l^{-1}$) | Verwachte concentratie schelpdiervlees ($C_m$, mg $kg^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| Cr | 19.900 | 0,24 | 4,776 |
| Co | 1.601 | 0,06 | 0,096 |
| Ni | 230 | 8,31 | 1,911 |
| Cu | 792 | 21,4 | 16,949 |
| Zn | 12.500 | 26,56 | 332 |
| Mo | 100 | 9,43 | 0,943 |
| Cd | 7.880 | 0,12 | 0,946 |
| Sn | 60.000 | 1,99 | 119 |
| Pb | 1.360 | 0,75 | 1,020 |
| 2, 4, 6-TNT | 9,7 | 12,3 | 0,125 |
| 2,4-DNT | 20,6 | 1,9 | 0,039 |
| HMX | 0,6 | - | - |
| RDX | 2,3 | 0,7 | 0,002 |

Bij bovenstaande tabel moet rekening gehouden worden met het feit dat dit eerste, grove schattingen zijn. Zowel de BCF als de maximale concentratie in het water worden door veel factoren beïnvloed en kunnen ook soortafhankelijk zijn, waardoor een grote spreiding in de echte concentratie in het schelpdiervlees verwacht kan worden. Desalniettemin kan het wel een orde-van-grootte inschatting geven.

## 3.2 Normen energetische stoffen en metalen

De energetische stoffen die onderwerp zijn van dit onderzoek stoffen lossen relatief gezien redelijk op in water, wat leidt tot een snelle verspreiding en daarmee verdunning in het zeewater. De concentraties waarmee organismen worden blootgesteld zijn daarom mogelijk alleen zeer lokaal, direct naast eroderende munitie bijvoorbeeld, hoog. De doorgaans lage concentratie in het water is van belang, want deze stoffen vertonen een lage giftigheid (Nipper e.a., 2001; Juhasz en Naidu, 2007).

Relatief hoge waterconcentraties (orde-van-grootte mg per liter) zijn daarom nodig om toxische effecten bij de geteste organismen, waaronder vissen, aan te tonen. Deze stoffen bioaccumuleren nauwelijks in organismen en kunnen daarnaast biologisch snel afgebroken worden. Door deze factoren samen vormen de energetische stoffen niet snel een groot ecologisch en/of humaan risico en dit wordt weerspiegeld in de afwezigheid van normen voor deze stoffen.

In de literatuur zijn geen normen gevonden voor betreffende energetische stoffen in biota. Binnen de grote internationale monitoring programma's zoals OSPAR, KRW, KRM, en andere programma's, waaronder het Helcom programma van de Baltische staten worden de energetische stoffen niet als prioritaire stoffen vermeld.

De OSPAR conventie heeft tot doel de bescherming van het mariene milieu van de Noord-Oost Atlantische Oceaan, inclusief de Noordzee. OSPAR heeft een stoffenlijst samengesteld met ruim 400 stoffen op een List of Substances of possible concern. Dit zijn stoffen waarvan is aangenomen dat ze persistent, én bioaccumulerend én toxisch zijn voor aquatische organismen. Later is deze lijst gereduceerd op basis van aanvullende informatie. De energetische stoffen die onderwerp zijn van deze studie komen daar niet in voor.

De Europese Kaderrichtlijn water (KRW) heeft als doel om een goede kwaliteit van het oppervlakte water in Europa in 2015 te bewerkstelligen en te behouden. Voor het vaststellen van een Goede Chemische Toestand (GCT) zijn er 45 prioritaire stoffen benoemd die aan de EU-norm moeten voldoen(EU, 2013). De energetische stoffen die in het kader van voorliggend onderzoek zijn geen onderdeel van deze prioritaire stoffenlijst. Er zijn ook geen milieukwaliteitsnormen (MKN) bekend voor de energetische stoffen.

In de Verenigde Staten hanteert de Environmental Protection Agency (EPA) een lijst met 126 prioritaire stoffen. Ook daar komen de energetische stoffen uit voorliggend onderzoek niet in voor.

Voor schadelijke stoffen zijn er diverse nationale, Europese en internationale richtlijnen. De helpdesk water hanteert een lijst in het kader van het vergunningsverleningsproces en monitoringsprogramma's voor de stoffen uit de lijst "Risico's van stoffen" (www.rivm.nl/rvs/). Zo is er voor TNT is er een MTR opgenomen voor het grondwater van 0,62 $\mu g\ l^{-1}$. Voor 2,4-DNT is de MTR in het oppervlaktewater 118 $\mu g\ l^{-1}$. Voor 2 A-DNT en 4 A-DNT is de MTR in het oppervlaktewater 1,8 $\mu g\ l^{-1}$. RDX heeft een MTR voor oppervlaktewater van 1,67 $\mu g\ l^{-1}$ (Lijzen e.a., 2009). Zoals aangegeven worden deze waarden gebruikt bij lozingen op het oppervlaktewater. Ze hebben niets te maken met effecten op het ecosysteem.

Voor lang niet alle metalen zijn voedselveiligheidsnormen opgenomen in de wetgeving. Voor kwik, cadmium en lood zijn normen gesteld in schelpdieren, zie Tabel 2.

*Tabel 2: Normen voor zware metalen en energetische stoffen in biota*

| | Voedselveiligheid | MKN biota |
|---|---|---|
| | mg $kg^{-1}$ | mg $kg^{-1}$ |
| Kwik | 0,5 | 0,02* |
| Lood | 1,5 | |
| Cadmium | 1,0 | |

* Methylkwik

Voor methylkwik is vanuit de Kaderrichtlijn Water (KRW) ook een milieunorm gesteld in biota (Milieu Kwaliteits Norm). Deze bedraagt 20 µg $kg^{-1}$ natgewicht. Omdat kwik in schelpdieren ongeveer voor 50% uit methylkwik bestaat (Roex en Van Den Heuvel-Greve, 2010) komt dit overeen met een totaal kwikgehalte van 40 µg $kg^{-1}$.

## 3.3 Gemeten concentraties metalen en energetische stoffen in oestervlees

### *3.3.1 Metalen*

De oestermonsters van de munitiestortplaats en van de referentie locatie zijn onderzocht op metaalgehalten. In Tabel 3 staan de gemeten gehalten voor beide monsters, zowel uitgedrukt per kg nat vleesgewicht als per kg droge stof.

*Tabel 3: Gemeten concentraties zware metalen in het oestervlees die verzameld zijn op de munitiestort en de referentielocatie. De gehaltes zijn uitgedrukt in µg $kg^{-1}$ vleesgewicht en mg $kg^{-1}$ droge stof. Het oestervlees van de oesters op van de munitiestort had een droge stof percentage van 15,5% en de oesters van de referentie hadden een droge stof percentage van 18,3 %.*

| | Munitiestort | | Referentie | |
|---|---|---|---|---|
| | LIMS 2014/1668 | Droge stof (%) | LIMS 2014/1970 | Droge stof (%) |
| | | 15,5 | | 18,3 |
| Metaal | µg $kg^{-1}$ vlees | mg $kg^{-1}$ DS | µg $kg^{-1}$ vlees | mg $kg^{-1}$ DS |
| Ba | 55 | 0,35 | 48 | 0,26 |
| Cd | 150 | 0,97 | 91 | 0,50 |
| Cr | 150 | 0,97 | 240 | 1,31 |
| Co | 47 | 0,30 | 33 | 0,18 |
| Cu | 30.000 | 194 | 7.500 | 41 |
| Pb | 130 | 0,84 | 150 | 0,82 |
| Hg | 23 | 0,15 | 27 | 0,15 |
| Ni | 86 | 0,55 | 160 | 0,87 |
| Zn | 360.000 | 2.323 | 200.000 | 1.093 |

De concentraties van bepaalde metalen verschillen sterk tussen de twee locaties, zowel in gehalte als in profiel. De gehalten barium, lood en kwik in het oestervlees van het munitiedepot en de referentie komen overeen. De concentraties cadmium, kobalt en vooral koper en zink zijn hoger in het oestervlees van de munitiestort dan van de referentielocatie. Het gehalte aan zink is in de oesters van de munitiestort 1,8 keer en voor koper 4 keer hoger ten opzichte van de referentielocatie. Tenslotte valt het op dat de gehalten aan chroom en nikkel hoger zijn in het oestervlees van de referentielocatie dan van de munitiestortplaats. Dit kan mogelijk het gevolg zijn van ruimtelijke variatie in de Oosterschelde.

Een vergelijking van de voedselveiligheidsnormen (Tabel 2) met de gemeten gehalten laat zien dat de kwik-, cadmium- en loodconcentraties in het oestervlees ruim onder voedselveiligheidsnorm blijven.

De oesters van de munitiestort en de referentielocatie overschrijden ook de MKN voor methylkwik in biota niet, met de aanname dat 50% van het totaal gemeten kwik uit methyl-kwik bestaat. Voor de overige metalen zijn geen normen beschikbaar.

De gemeten gehaltes aan zware metalen zijn ook vergeleken met gehaltes die eerder gemeten zijn in oestervlees voor een studie naar de effecten van het gebruik van staalslakken bij een vooroeverbestorting aan de noordkant van de Zeelandbrug (Schellekens e.a., 2014). De gehalten die gemeten zijn in 2014 bij de Zeelandbrug staan vermeld in Tabel 4. Als de waarden uit voorliggende studie worden vergeleken met die bij de Zeelandbrug dan blijkt dat alleen koper in het oestervlees van de munitiestort is hoger dan zowel de referentielocatie als de Zeelandbrug (< factor 2). De gehalten aan chroom op zowel het munitiedepot en de referentie zijn hoger ten opzichte van de Zeelandbrug. Bariumgehalten lijken hoger bij de Zeelandbrug dan de gehalten uit deze studie, maar als het gehalte van één monster (uitbijter) wordt genegeerd bedraagt het gehalte ongeveer 0,5 mg $kg^{-1}$ droge stof, wat meer overeenkomt met de gehalten op de munitiestort en de referentie. Een vergelijking met de gehalten berekend (geschat) in Tabel 1 laat zien dat de koper gehalten hoger zijn dan geschat, zink concentratie komt goed overeen en de gehalten kobalt, lood, cadmium, chroom en nikkel zijn lager dan geschat.

*Tabel 4: Gemeten concentraties zware metalen in het oestervlees die verzameld zijn bij de Zeelandbrug in de vierde bemonstering (2014) (naar Schellekens e.a., 2014).*

| Metaal | Gemiddeld gehalte (mg $kg^{-1}$ droge stof) | Standaarddeviatie (mg $kg^{-1}$ droge stof) |
|---|---|---|
| Ba | 3,27* | 4,9 |
| Cd | 0,92 | 0,11 |
| Cr | 0,28 | 0,16 |
| Co | 0,26 | 0,01 |
| Cu | 109 | 8,0 |
| Pb | 0,51 | 0,03 |
| Hg | 0,20 | 0,01 |
| Ni | 0,47 | 0,03 |
| Zn | 2.257 | 119 |

* Hoge bariumgehalte veroorzaakt door 1 uitschieter van de drie monsters

### *3.3.2 Energetische stoffen*

De oestermonsters van de munitiestortplaats en van de referentie locatie zijn onderzocht op gehalten aan energetische stoffen, zie Tabel 5. Er zijn geen energetische stoffen boven de detectielimiet aangetroffen.

*Tabel 5: Gemeten concentraties energetische stoffen in het oestervlees die verzameld zijn op de munitiestort en de referentielocatie. Tevens zijn de gemeten gehalten in de gespikte monsters gegeven. De monsters zijn gespiked tot een beoogde concentratie van ongeveer 30 µg kg$^{-1}$ versgewicht*

| | TNT | 4,6 DNT | 4A-DNT | 2-A-DNT | RDX | HMX |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gehalten in microgram per kg natgewicht | | | | | |
| Referentie | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| Munitiestortplaats | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| Spike referentie | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| Spike stortplaats | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |

In de tabel staan ook de controlemonsters ("Spike"); beide monsters zijn ook gespiked met energetische stoffen om te borgen dat de extractie en analyse goed is verlopen. Er zijn echter geen gehalten gemeten boven de detectielimiet (5 µg kg$^{-1}$ oestervlees voor TNT en TNT-derivaten, 10 µg kg$^{-1}$ voor RDX en HMX), wat op grond van de toevoegingen wel verwacht wordt. Dit leidde tot vragen over de betrouwbaarheid van de analyses. Daarom zijn nieuwe extracten gemaakt die zonder opwerking (verwijdering van vet) zijn geanalyseerd. Ook zijn de gebruikte spike-oplossingen opgestuurd. Het bleek dat de ruwe extracten ook te analyseren waren (vetgehalte in oesters was laag genoeg om geen grote storing te veroorzaken) en er geen energetische stoffen waarneembaar waren. De detectielimieten zijn door het gebruik van niet voorbewerkt extract wel een factor 2 hoger geworden. De analyse liet ook zien dat de concentratie energetische stoffen in de toegevoegde spike veel lager was dan berekend, blijkbaar is bij de voorbewerking van deze oplossing (waarschijnlijk bij het verwisselen van oplosmiddel) veel verloren gegaan. Dit verklaart waarom er geen energetische stoffen in extracten met spike gemeten konden worden.

De metingen onderschrijven de resultaten uit eerdere studies, waarin geen of zeer lage concentraties energetische stoffen zijn aangetroffen rond de munitiestortplaats. Dit is een geheel andere situatie dan bij andere bekende organische contaminanten zoals bijvoorbeeld PAK's en PCB's. PAK's en PCB's lossen nauwelijks in water op (<microgrammen per liter), binden juist zeer sterk aan bv (de vetten in) oestervlees. Een niet te meten lage concentratie in het water (picogrammen per liter) kan al leiden tot goed meetbare gehalten in het oestervlees. In het geval van PCB's, die niet of nauwelijks afbreekbaar zijn, kan een plaatselijke bron over langere tijd via de voedselketen een groot gebied beïnvloedden.

# 4 Discussie en conclusies

Op basis van deze studie kan worden geconcludeerd dat visueel gezien de bodemdiergemeenschap van de munitiestort niet zichtbaar is aangetast door de munitie. De zeebodem is ter plekke van de munitiestort rijk aan leven en organismen hechten zich aan de harde substraten die her en der verspreid liggen. Er zijn weinig mosselen op de zeebodem aanwezig, wat niet vreemd is buiten de kweekpercelen van de Oosterschelde, maar er liggen wel verspreid over de bodem solitaire wilde Japanse oesters. Er is daarom voor gekozen om deze Japanse oesters te verzamelen voor dit onderzoek in plaats van mosselen. De concentraties zware metalen en energetische stoffen in het oestervlees van de munitiestort zijn geanalyseerd en vergeleken met de concentraties in oesters van een referentielocatie. Er kan worden aangenomen dat het mosselvlees op de nabijgelegen kweekpercelen minder zal worden beïnvloed door het vrijkomen van stoffen uit de munitiestort dan de oesters op de munitiestort zelf. De verzamelde oesters van de munitiestort kunnen daarmee worden gezien als een worst-case situatie voor de mosselen op de nabijgelegen kweekpercelen.

## 4.1 Gehalten zware metalen

De gehalten van sommige zware metalen (cadmium, kobalt, koper en zink) in oesters zijn hoger, terwijl de gehalten aan chroom en nikkel juist lager zijn in de munitiestortplaats vergeleken met de referentielocatie. De gemeten gehalten in de oesters zijn voor de meeste metalen lager dan is berekend in Tabel 1; de inschatting op basis van de bioconcentratiefactor en de berekende concentraties contaminanten in het zeewater. Zink concentratie komt goed overeen met de schatting, terwijl de gemeten koperconcentratie twee keer hoger is dan de schatting.

Om meer inzicht te krijgen in de gehalten aan metalen zijn data van metaalconcentraties in oesters van het munitiedepot en de referentielocatie vergeleken met de gehalten die zijn gemeten in een andere recente studie (Schellekens e.a., 2014) op een nabijgelegen locatie bij de Zeelandbrug. Dit toont aan dat de concentraties en profielen van metalen (de onderlinge concentraties van metalen in het monster) voor deze drie locaties niet gelijk zijn.

Relatief gezien zijn de verschillen in gehalten tussen locaties soms duidelijk (factor 2), maar absoluut is het verschil niet zo hoog. Zoals beschreven in Schellekens e.a. (2014) kunnen de verschillen tussen de jaren voor oesters en ook voor mosselen aanzienlijk zijn en is de accumulatie van metalen soort afhankelijk. Op basis van één gepoold monster oesters lijken alleen de gehalten aan koper verhoogd in de munitiestortplaats t.o.v. de het gehalten in de referentie locatie van deze studie en de gehalten bij de Zeelandbrug (Schellekens e.a., 2014).

Uit deze data blijkt dat de metaalconcentraties in oestervlees lokaal kunnen verschillen, niet alleen in gehalte maar ook in onderlinge verhouding. Zo zijn de zinkconcentraties het hoogst bij de munitiestort en de Zeelandbrug, de chroom concentraties het hoogst bij de referentielocatie, en de koperconcentratie het hoogst bij de munitiestort. De gehalten van andere metalen komen min of meer overeen op alle locaties. Alleen koper is in het oestervlees in de munitiestort in een hogere concentratie gemeten dan in de referentie locatie én de Zeelandbrug. Dit kan duiden op een lokale bron van opgelost koper bij de munitiestort. Deze observatie is gebaseerd op een gepoold monster oesters. Dit monster is relevant voor oesters van de munitiestort, maar het valt niet uit te sluiten dat in een ander jaargetijde de gehalten of de verhoudingen van de metalen enigszins anders zijn. Variatie in gehalten aan zware metalen in biologisch materiaal is, ook binnen dezelfde soort, vaak hoog door allerlei redenen (leeftijd, gezondheid, habitat, seizoen, ...).

De gemeten gehalten aan metalen in de oesters van de munitiestort tonen niet aan dat deze schelpdieren negatief worden beïnvloed door het vrijkomen van biologisch beschikbare metalen uit de munitiestort. De gehalten koper zijn hoger ten opzichte van referentielocaties, maar het is niet aangetoond dat dit verschil statistisch significant is. Het lijkt dan ook niet waarschijnlijk dat de mosselen op de kweekpercelen in de omgeving van de munitiestort worden beïnvloed door de munitiestort, omdat de geanalyseerde oesters, in tegenstelling tot de mosselen op de percelen, tussen de munitie liggen. Tevens liggen de oesters daar, gezien hun grootte (Figuur 4), al meerdere jaren terwijl de mosselen doorgaans niet langer dan 1 of 2 jaar op het perceel liggen. De oesters van de munitiestort kunnen dan ook worden gezien als een worst-case situatie van de mosselen op de kweekpercelen.

De rapportages van de vorige onderzoeken geven een wisselend beeld over de metaalgehalten bij de munitiestort. Koper en zink concentraties waren het hoogst in het water boven de munitiestortplaats (Van Ham e.a., 2001b), wat overeenkomt met de gemeten gehalten in oesters in deze studie. In de studie van Van Ham e.a. (2002) waren de concentraties van chroom, nikkel en cadmium in water op de munitiestortplaats significant hoger dan op referentielocaties in de buurt. Dit wordt niet weerspiegeld in de gehalten in de oesters van dit onderzoek.

Als naar de normen voor voedselveiligheid wordt gekeken dan voldoen de oesters op de munitiestort aan de kwik, lood en cadmium normen, evenals aan de milieunorm voor methylkwik in biota.

## 4.2 Gehalten energetische stoffen

In het oestervlees van de munitiestortplaats zijn geen energetische stoffen aangetroffen wat wil zeggen dat de gehalten in de monsters lager zijn dan de detectielimiet. Als de waterconcentraties uit het onderzoek van 2001 worden aangehouden (Van Ham e.a., 2002), dan liggen, gezien de beperkte BCF, de verwachte concentraties in de oesters rond of onder de gerapporteerde detectielimiet van 5-10 microgram per kg. Alleen als de concentraties in het water zo hoog zijn als berekend door van Van Eck e.a. (2001), waar is aangenomen dat alle energetische stoffen in een periode van 30 jaar vrijkomen in de waterfase, kunnen concentraties van bepaalde energetische stoffen (TNT bijvoorbeeld) hoger dan de detectielimiet verwacht worden.

De kwaliteit van de meting is geborgd door zowel het controlemonster als het monster van de stortplaats te spiken met bekende concentraties van enkele energetische stoffen op een laag niveau (30 $\mu g\ kg^{-1}$ nat vleesgewicht). Het laboratorium dat de eindextracten analyseert was niet op de hoogte van de identiteit van de monsters, noch van welke waren gespiked met welk type energetische stof. Het laboratorium was echter niet in staat om deze stoffen aan te tonen in de oesterextracten. Dit kan worden veroorzaakt door een storend effect van de oestermatrix op de meting, of door het verlies van componenten in de opwerking en verzending. De analyse van energetische stoffen is daarom op meerdere manieren herhaald. Deze aanvullende analyses toonden aan dat er geen storende effecten optraden in de oestermatrix, maar dat de gebruikte spike niet goed was. Een goede spike oplossing zorgde wel voor goed meetbare pieken in het chromatogram. Om uit te sluiten dat de opwerkingsprocedure, voornamelijk bedoeld om vet te verwijderen uit het extract, toch ook (gedeeltelijk) de energetische stoffen zou verwijderen, is ook ruw extract geanalyseerd. Dit was mogelijk omdat de vetgehalten in de oester laag genoeg waren. Ook deze analyse toonde geen energetische stoffen in de oesterextracten aan.

Naast de geringe accumulatie van energetische stoffen in organismen, veroorzaakt door de chemische eigenschappen van deze stoffen, is ook bekend dat ze snel afgebroken kunnen worden in het milieu. Dat betekent dat lage concentraties in het zeewater behalve door verdunning ook door afbraak verder verlaagd kunnen worden.

De metingen onderschrijven de resultaten uit eerdere studies, waarin geen of zeer lage concentraties energetische stoffen zijn aangetroffen rond de munitiestortplaats. Dit is een geheel andere situatie dan bij andere bekende organische contaminanten zoals bijvoorbeeld PAK's en PCB's. Deze stoffen lossen nauwelijks in water op (<microgrammen per liter), binden juist zeer sterk aan bv (de vetten in) oestervlees. Een niet te meten lage concentratie in het water (picogrammen per liter) kan al leiden tot goed meetbare gehalten in het oestervlees. In het geval van PCB's, die niet of nauwelijks afbreekbaar zijn, kan een plaatselijke bron over langere tijd via de voedselketen een groot gebied beïnvloedden. De lage gehalten energetische stoffen, dat wil zeggen gehalten lager dan de detectielimiet van 5-10 µg $kg^{-1}$, liggen ruim onder risiconiveaus voor de ecologie en voor humane voedselveiligheid.

## 4.3 Aanbevelingen voor vervolg monitoring

De invloed van de munitiestortplaats op gehalten metalen en energetische stoffen is onderzocht aan de hand van één samengesteld oestermonster (20 oesters) verkregen op de stortplaats en één samengesteld oestermonster (12 oesters) verzameld op de referentielocatie. Omdat deze monsters bestaan uit verschillende individuele oesters, geven de gepoolde monsters een goed algemeen beeld van de concentraties in de oesters ter plekke, op dat moment. De gehalten in deze monsters zijn daarmee een afspiegeling van de concentraties op het moment van bemonsteren. De gemeten gehalten aan metalen in het onderzoek bij de Zeelandbrug tonen aan dat er grote jaarlijkse variatie in gehalten op één locatie kan optreden. Bij het interpreteren van verschillen in gehalten tussen de munitiestortplaats, de referentie locatie en de locatie Zeelandbrug moet hiermee rekening gehouden worden. Een herhaling van de monitoring zou een beeld geven van deze variatie wat betreft de gehalten aan zware metalen in oesters.

Wat betreft de energetische stoffen waren de concentraties zo laag dat ze beneden de detectielimiet lagen. Voor een eventuele aanvullende monitoring is het van belang dat de analysemethode verder kan worden verbeterd waardoor de detectielimiet naar beneden kan worden gebracht. Naast het verzamelen van oesters van andere delen van de stortlocatie, zouden er ook schelpdieren (mosselen en oesters) in mandjes op de stortlocatie en in een referentiegebied kunnen worden uitgezet voor een periode van 4 tot 6 weken.

# 5 Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 124296-2012-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2015. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Vis over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 1 april 2017 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

## Referenties


EU (2013) Richtlijn 2013/39/EU van het Europees parlement en de raad tot wijziging van de richtlijn 2000/60/EG en richtlijn 2008/105/EG wat betreft prioritaire stoffen op het gebied van het waterbeleid, Rapport, 6 pagina's.

Hennis-Plasschaert, J. A. (2013) Antwoorden op vragen over de munitiestort in de Oosterschelde. Ministerie van Defensie, Rapport nummer: BS2013035552, 5 pagina's.

Juhasz, A. L. en R. Naidu (2007) Explosives:Fate, dynamics and ecological impact in terrestrial and marine environments. Rev Environ Contam Toxicol 191: 163-215.

Lijzen, J. P. A., J. W. Claessens en M. Mesman (2009) Advies 'beoordeling bodemverontreiniging als gevolg van verbrandingsproducten van munitie'. RIVM, Rapport nummer: 607635002/2009, 44 pagina's.

Lotufo, G. R., W. Blackburn, S. J. Marlborough en J. W. Fleeger (2010) Toxicity and bioaccumulation of TNT in marine fish in sediment exposures. Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 1720-1727.

Lotufo, G. R., G. Rosen, W. Wild en G. Carton (2013) Summary review of the aquatic toxicology of munitions constituents. US Army Corps of Engineers, Rapport nummer: EDRC/EL TR-13-8, 122 pagina's.

Nipper, M., R. S. Carr, J. M. Biedenbach, R. L. Hooten, K. Miller en S. Seapoff (2001) Development of Marine Toxicity Data for Ordnance Compounds. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 41: 308-318.

Roex, E. en M. J. Van Den Heuvel-Greve (2010) Monitoring van bioaccumulerende prioritaire KRW stoffen; in water of in biota? Deltares, Rapport nummer: 1001-0154, 42 pagina's.

Schellekens, T., S. Glorius en M. J. Van Den Heuvel-Greve (2014) Variatie en trend van de gehaltes zware metalen op locatie Zeelandbrug Data rapport 2013. IMARES, Rapport nummer: C055/14, 26 pagina's.

Troost, K. (2010) Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster Crassostrea gigas in continental NW European estuaries. Journal of Sea Research 64: 145-165.

Van Eck, G. T. M., A. M. B. M. Holland en J. A. Van Pagee (2001) Risicobeoordeling Munitiestort Oosterschelde. RIKZ, Rapport nummer: RIKZ/2001.022, 39 pagina's.

Van Ham, N. H. A. en W. Duvalois (1999) Onderzoek Munitiedump Oosterschelde. TNO Prins Maurits Laboratorium, Rapport nummer: PML 1999-A59, 36 pagina's.

Van Ham, N. H. A., W. Duvalois en H. W. R. Sabel (2001a) Onderzoek in zee gestorte munitie. TNO Prins Maurits Laboratorium, Rapport nummer: PML 2001-A6, 56 pagina's.

Van Ham, N. H. A., H. P. Van Dokkum en M. Blankendaal (2001b) Beoordeling van de milieurisico's van gestorte munitie in de Oosterschelde Bureaustudie op basis van metingen in 1999. TNO Prins Maurits Laboratorium, Rapport nummer: PML 2000-A68, 50 pagina's.

Van Ham, N. H. A., W. Duvalois, M. Blankendaal, J. A. Van Dalfsen en H. P. Van Dokkum (2002) Beoordeling van de milieurisico's van gestorte munitie in de Oosterschelde. Vervolgonderzoek op basis van metingen in 2001. TNO Prins Maurits Laboratorium, Rapport nummer: PML 2002-A9, 70 pagina's.

Van Ham, N. H. A., W. Duvalois, J. A. Van Dalfsen en A. Weber (2004) Beoordeling van milieurisico's van gestorte munitie in de Oosterschelde. Vervolgonderzoek op basis van metingen in 2003. TNO Prins Maurits Laboratorium, Rapport nummer: PML 2004-A40, 25 pagina's.

Wijsman, J. W. M., M. Dubbeldam, M. J. De Kluijver, E. Van Zanten en A. C. Smaal (2008) Wegvisproef Japanse oesters in de Oosterschelde. Eindrapportage. Wageningen IMARES, Rapport nummer: C063/08, 95 pagina's.

## Verantwoording

Rapport : C040/15
Projectnummer : 4303106401

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord: Drs. M.J. van den Heuvel-Greve
Onderzoeker afdeling Delta

Handtekening:



Datum: 4 maart 2015

Akkoord: Dr. ing. R.E. Trouwborst
Hoofd afdeling Delta en Aquacultuur

Handtekening:



Datum: 4 maart 2015

## Bijlage A. Duikinspectie

Organismen zijn verzameld met het schip m.s. Neptunus van N-Sea uit Zierikzee. Er zijn vier duiken uitgevoerd tijdens twee dagen (maandag 19 mei en donderdag 12 juni 2014). Op de eerste dag is voornamelijk gezocht naar mosselen. Omdat het tijdens die eerste dag duidelijk werd dat er niet voldoende mosselen verzameld zouden worden zijn er ook andere organismen verzameld waaronder 2 Japanse oesters. Op de tweede dag (duik 3) is er vooral gezocht naar Japanse oesters.

Voor alle duiken is het schip geankerd aan de noordwestrand van de munitiestortplaats (Figuur 3). Er zijn vier ankers uitgezet waardoor het schip stabiel op zijn positie kon blijven liggen. De duik is uitgevoerd door een duiker terwijl een tweede duiker stand-by was aan boord. Tijdens de duik was radio contact mogelijk met de duiker. Op de helm van de duiker was een lamp en video camera gemonteerd, waardoor aan boord life meegekeken kon worden. De beelden van de camera zijn opgeslagen. De organismen zijn verzameld in een duikzak en aan boord bewaard in een koelbox. De volgende dag is het monster gekoeld aangeleverd op het lab in IJmuiden.

**Duik 1**: Maandag 19 mei 2014 tijdens de hoogwaterkentering. Er is gedoken op locatie met coördinaten 51°37.9878′ N; 3°52.371’ E, bij een waterdiepte van 28 meter. De duiker heeft de bodem bereikt om 8:11 uur en is om 8:31 uur weer teruggekomen. Tijdens de duik heeft de duiker zwemmend rond een verankeringspunt gezwommen waarbij met een camera de beelden zijn geregistreerd. Tijdens de inspectie is op diverse plaatsen munitie aangetroffen. Zo zijn er verspreid diverse patroonhulzen gezien. Ook zijn er kistjes gevonden die begroeid waren met onderwaterfauna. Tijdens de inspectie zijn geen levende mosselen aangetroffen. Wel enkele lege schelpen. Oesters zijn er ook niet gevonden. Levende organismen die zijn gezien zijn zandkokerworm, zeester, brokkelster, strandkrab, heremietkreeft, kreeft, grondel.

**Duik 2**: Maandag 19 mei 2014 tijdens de laagwaterkentering. Er is door een tweede duiker gedoken op locatie met coördinaten 51°38.023′ N; 3°52.291’ E, bij een waterdiepte van 26 meter. De duiker heeft de bodem bereikt om 13:15 uur en is om 14:30 weer teruggekomen. Voor deze duik is een iets ondiepere locatie gekozen. Dit met het idee dat de kans op mosselen toeneemt bij geringere diepte. Een ander voordeel is dat de duiker langer beneden kon blijven dan tijdens duik 1 (1:15 uur ten opzichte van 20 minuten op locatie 1). Zicht onder water was goed. Opvallend veel kokerwormen. Verder veel slibanemonen. Andere soorten die zijn aangetroffen zijn brokkelster, heremietkreeft, zeester, zakpijp, strandkrab, oester, wulken, muiltje, 1 mossel, zager, schelpen van tapijtschelp, kokkel, oester en mesheft. Er zijn diverse restanten van munitie aangetroffen zoals een kistje, patronen, en restanten koper en ijzer. Echter de hoeveelheid munitierestanten was minder dan op locatie 1. Tijdens het duiken zijn diverse organismen verzameld en meegenomen. 2 grote oesters, 1 mossel, 3 slibanemonen, 4 á 5 grote wulken, muiltjes.

**Duik 3**: Donderdag 12 juni 2014 is er een derde duik uitgevoerd tijdens de laagwaterkentering op locatie met de coördinaten 51°37.954’ N; 3°52.297’ E, op een waterdiepte van 23.5 m NAP. De duiker heeft de bodem bereikt om 9:35 uur en is om 10:55 uur weer teruggekomen. De totale zoektijd op de bodem was 1 uur en 20 minuten. Het zicht tijdens de duik was goed. De duiker heeft zich vooral gericht op het verzamelen van Japanse oesters. Op de bodem zijn diverse patronen en munitiekistjes aangetroffen. Grote concentraties met kokerwormen en veel hydroidpoliepen. Tijdens de duik zijn 20 Japanse oesters verzameld. Andere soorten die zijn aangetroffen zijn strandkrab, brokkelster, zeester, heremietkreeft, slibanemoon, knotszakpijp, doorschijnende zakpijp, muiltje en wulk. Daarnaast diverse botervisjes en harnasmannetjes en een juveniele tong. Ook lagen er verspreid diverse schelpen van tapijtschelp, mesheft en oester. De hoeveelheid leven dat is aangetroffen tijdens duik 3 was meer dan tijdens duiken 1 en 2. De levende oesters zijn meegenomen aan boord.



*Figuur 5: Klaarmaken van de duiker voor de duik (foto: H. Silooy).*



*Figuur 6: Standby duiker zit gereed voor eventuele calamiteiten (foto: J. Wijsman).*



Figuur 7: Na duik wordt duiker klaargemaakt om de decompressieruimte in te gaan (foto: H. Silooy).



Figuur 8: Oogst aan oesters uit duik 3 (foto: J. Wijsman).

## Bijlage B. Energetische stoffen

Energetische stoffen zijn stoffen die chemisch reageren waarbij energie vrijkomt die noodzakelijk is voor de beoogde toepassing ervan. Springstoffen, pyrotechnische middelen en stuwstoffen zijn subklassen van energetische materialen. Hieronder volgt een kort overzicht van de eigenschappen van deze stoffen.

**TNT (2,4,6-trinotrotolueen)**, molecuulgewicht 227,13 g $mol^{-1}$, is een gele stof dat beperkt oplost in water. Bij 25°C is de oplosbaarheid 130 mg $l^{-1}$ (Lotufo e.a., 2013). De $LC_{50}$ varieert van 0,98 mg $l^{-1}$ tot 19,5 mg $l^{-1}$. De bioconcentratiefactor van TNT voor mosselen is 0,31 ml $g^{-1}$. In het weefsel wordt TNT omgezet in aminodinitrotolueen (2-Am-DNT en 4-Am DNT). Vanwege de lage $K_{ow}$ waarde (Log $K_{ow}$ is 1,6) zal TNT slecht binden aan sediment en makkelijk met het water worde verplaatst (Juhasz en Naidu, 2007).

**2,4-dinitrotolueen (2,4-DNT)**, molecuulgewicht 182,14 g $mol^{-1}$, heeft een oplosbaarheid in water van 166 mg $l^{-1}$ bij 25°C. LC50 waarden in water variëren van 4,4 tot 49 mg $l^{-1}$. Gezien de lage log($K_{ow}$) (1,98) is de potentie voor bioconcentratie beperkt. Voor zoetwatervissen is de bioconcentratie factor 4,5 tot 9,2 mg $l^{-1}$.

**2-amino-4,6 dinitrotolueen (2 A-DNT)** is een afbraakproduct van TNT. Het heeft een oplosbaarheid in water van 42 mg $l^{-1}$ bij 25°C. de LC50 in water varieert van 8,6 mg $l^{-1}$ tot > 50 mg $l^{-1}$. Bij estuariene vissen is een bioconcentratie factor gevonden van 13,1 ml $g^{-1}$.

**4-amino-2,6 dinitrotolueen (4 A-DNT)** is ook een afbraakproduct van TNT. Het heeft een oplosbaarheid in water van 42 mg $l^{-1}$ bij 25°C. de LC50 in water varieert van 8,6 mg $l^{-1}$ tot > 50 mg $l^{-1}$. De bioconcentratie factor is laag 13,1 ml $g^{-1}$.

**Royal Demolition Explosive (RDX)**, molecuulgewicht 22,26 g $mol^{-1}$, is een kleurloze kristalsoort met een oplosbaarheid in water van 56,3 mg $l^{-1}$ bij 25°C. De stof heeft een lage log $K_{ow}$ waarde (0,90). De bioconcentratiefactor van RDX voor mosselen is 0,7 ml $g^{-1.}$ Voor de meeste soorten is er geen significante sterfte aangetoond bij concentraties in de buurt van de oplosbaarheidslimiet. Eenmaal opgelost zal RDX niet sterk aan sediment hechten. RDX is onderhevig aan biodegradatie zowel onder aerobe als anaerobe condities. De afbraak in anaerobe condities is zelfs sneller dan in areobe condities (Lotufo e.a., 2013).

**High Melting Explosive (HMX)**, molecuulgewicht 296,16 g $mol^{-1}$, heeft een oplosbaarheid in water van 4,5 mg $l^{-1}$ bij 25 °C. De log $K_{ow}$ waarde is zeer laag (0,17). Bioconcentratiefactor voor mosselen is 0,31 ml $g^{-1}$. Ook HMX breekt af onder anaerobe condities, maar vrijwel niet onder aerobe condities (Lotufo e.a., 2013).

## Bijlage C. Analyseresultaten

Chemieberatung GmbH

Labor für Entwicklung und Analytik

Staatlich anerkannte Untersuchungsstelle
für Abwasser, Klärschlamm und Trinkwasser
Betrieblicher Umweltschutz

Akkreditiert nach DIN EN ISO/IEC 17025

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-PL-19673-01-00

DAC-PL-0100-00-10

Wartig Chemieberatung GmbH · Rudolf Breitscheid Str. 24 35037 Marburg

Imares
Wageningen UR
Dr. Michiel Kotterman
P.O. Box 68

**1970 AB Ijmuiden**
**The Netherlands**

| Ihr Schreiben vom | Ihr Zeichen | Unser Zeichen | Datum | Durchwahl |
|---|---|---|---|---|
| | | B141304 | 02.03.2015 | 06421-3090866 |

# UNTERSUCHUNGSBERICHT

## Untersuchung von Muschel-Extrakten auf Nitroaromaten

| | | |
|---|---|---|
| Ihr Auftrag | : | vom 03.11.2014 |
| Unsere Bearbeitungs-Nr. | : | 141304 |
| Probenzahl | : | 14 |
| Eingangsdatum | : | 05.11.2014 und 10.12.2014 |

| Proben-Nr. | Bezeichnung |
|---|---|
| 141304-001 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Toluene) |
| 141304-002 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Toluene) |
| 141304-003 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Methanol) |
| 141304-004 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Methanol) |
| 141304-005 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Toluene) spiked |
| 141304-006 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Toluene) spiked |
| 141304-007 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Methanol) spiked |
| 141304-008 | cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Methanol) spiked |
| 141304-009 | uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Toluene) |
| 141304-010 | uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Toluene) |
| 141304-011 | uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 (Methanol) |
| 141304-012 | uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 (Methanol) |
| 141304-013 | Spike-Solution (Toluene) |
| 141304-014 | Spike-Solution (Methanol) |

wartig
Chemieberatung GmbH

**Untersuchungsauftrag**

Die übersandten Extrakte sollten aus den Toluol-Extrakten mittels GC-ECD auf

2,4,6-Trinitrotoluol.
2,4-Dinitrotoluol
4-Amino-2,6-Dinitrotoluol
2-Amino-4,6-Dinitrotoluol

und mittels HPLC aus den Methanol-Extrakten auf

RDX (Hexogen)
HMX (Octogen)

untersucht werden.

Ebenfalls sollten die aufgestockten Proben auf diese Analyten untersucht werden, um die Bestimmungsgrenze in der vorliegenden Matrix zu bestätigen.

**Untersuchungsmethode**

GC-ECD:

Die Extrakte der Proben 141304-001 und -002 sowie -005 und -006 wurden ohne weitere Aufarbeitung oder Reinigung mit GC-ECD untersucht.

Die Extrakte der Proben 141304-009 und -010 wurden mit GC-ECD zunächst unaufgearbeitet untersucht. Anschliessend wurde ein Teil der Toluol-Extrakte mit einer geringen Menge SilicaGel für 5 Min. geschüttelt, um die Matrix-Anteile aus den Extrakten zu entfernen.

HPLC-DAD:

Die Extrakte der Proben 141304-003 und -004 sowie -007 und -008 wurden ohne weitere Aufarbeitung oder Reinigung Mittels HPLC-DAD untersucht.

Die Proben 141304-011 und -012 wurden mit HPLC-DAD untersucht. Da es keine störende Matrix in diesen Proben gab, wurde auf eine Aufreinigung verzichtet.
Die Spike-Lösungen wurden ohne weitere Bearbeitung analysiert.
Die Bestimmungsgrenze für die GC-ECD Untersuchung liegt bei 0,05 µg/ml Extrakt,
für die HPLC-Untersuchung bei 1 µg/ml Extrakt.

wartig
Chemieberatung GmbH

**Untersuchungsergebnis**

1. GC-ECD
   Es konnten in den Proben 141304-001 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970) und 141304-002(cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968) keine Nitroaromaten nachgewiesen werden (Spektren 1-4)

   Ebenfalls konnten in den übersandten aufgestockten Proben 141304-005 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 spiked) und 141304-006 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 spiked) keine Nitroaromaten nchgewiesen werden.

   Die Probe 141304-001 wurde mit einem hauseigenen Nitroaromaten-Standard aufgestockt, der sich im Spektrum deutlich aus der Matrix hervorhob (Spektrum 5)

   In den Proben 141304-009 (uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970) (Spektrum 6) und 141304-010 (uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968) (Spektrum 7) konnten sowohl vor als auch nach der Reinigung mit SilicaGel keine Nitroaromaten nachgewiesen werden (Spektren 8 und 9 nach Reinigung mit SilicaGel).

   In der Spike-Lösung 141304-13 konnten keine Nitroaromaten mit GC-ECD nachgewiesen werden.

2. HPLC
   Es wurde in den Proben 141304-003 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970), 141304-004 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968), 141304-011 (uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970) und 141304-012(uncleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968) kein RDX und kein HMX nachgewiesen.

   In den aufgestockten Proben 141304-007 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1970 spiked) und 141304-008 (cleaned Oyster-Extract Nr. 2014/1968 spiked) sowie in der Spike-Lösung 141304-14 wurden die Analyten RDX und HMX nachgewiesen.

**Zusammenfassung**

Es konnte in keinem der angelieferten Extrakte die gesuchten Analyten:
2,4,6-Trinitrotoluol.
2,4-Dinitrotoluol
4-Amino-2,6-Dinitrotoluol
2-Amino-4,6-Dinitrotoluol
RDX (Hexogen)
HMX (Octogen)
nachgewiesen werden.
Die Bestimmungsgrenzen lagen bei 0,05 µg/ml (GC-ECD) und 0,1 µg/ml (HPLC-DAD)

Dr. H. M. Berstermann, Dipl.Chem.

**Vorbehalt**

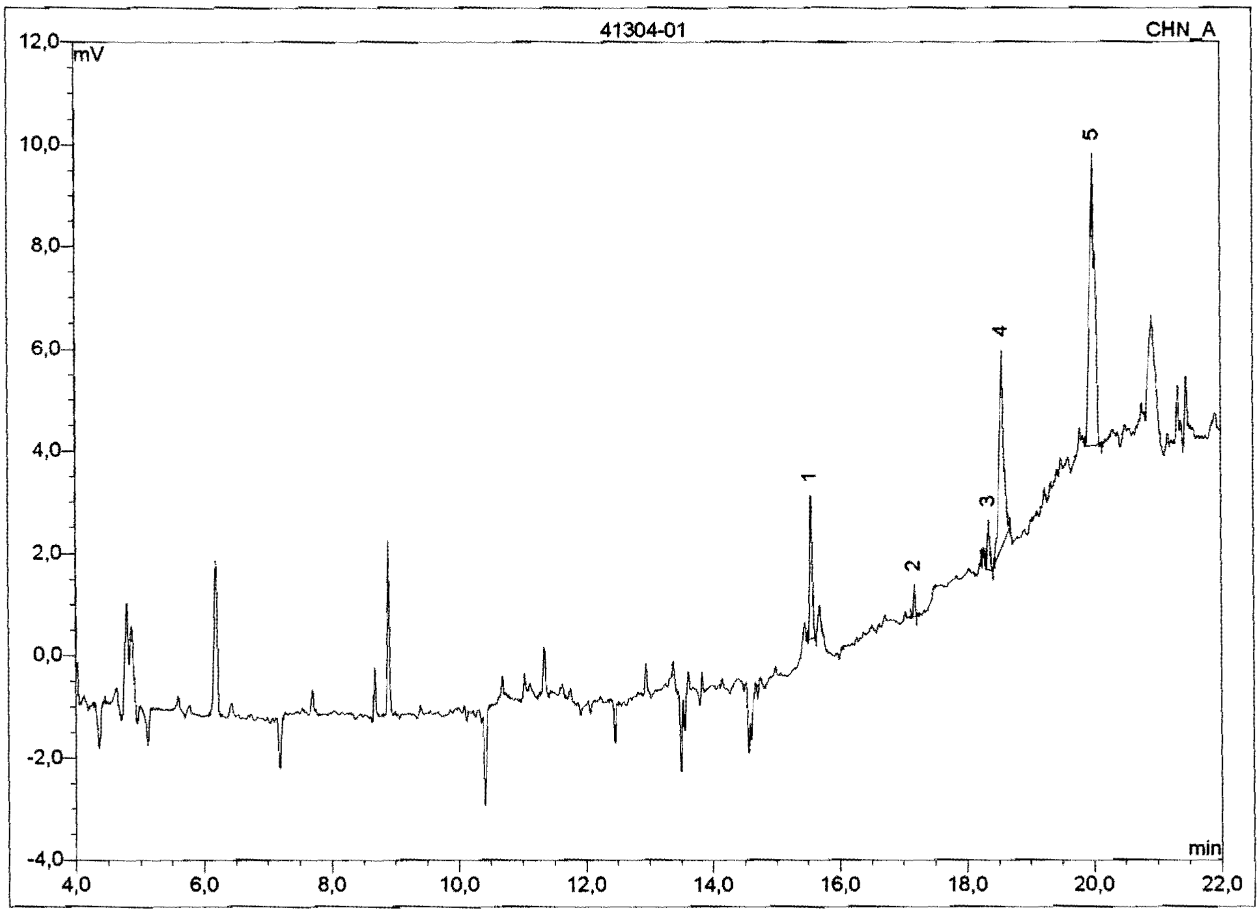
Untersuchungsergebnisse beziehen sich ausschließlich auf das uns vorliegende Probenmaterial; bei nicht vom Labor entnommenen Proben beziehen sich die Untersuchungsergebnisse auf den Anlieferungszustand.
Auszugsweise Veröffentlichungen von Untersuchungsberichten und Gutachten bedürfen unserer schriftlichen Einwilligung.

Spektrum 1

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-01 | **GC-Methode:** | 199 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11 | **Daten-Aufnahme:** | 07,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | **Einwaage:** | 50,0000 |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalt CHN_B | Gewählte Gehalte mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | 0,0000 |

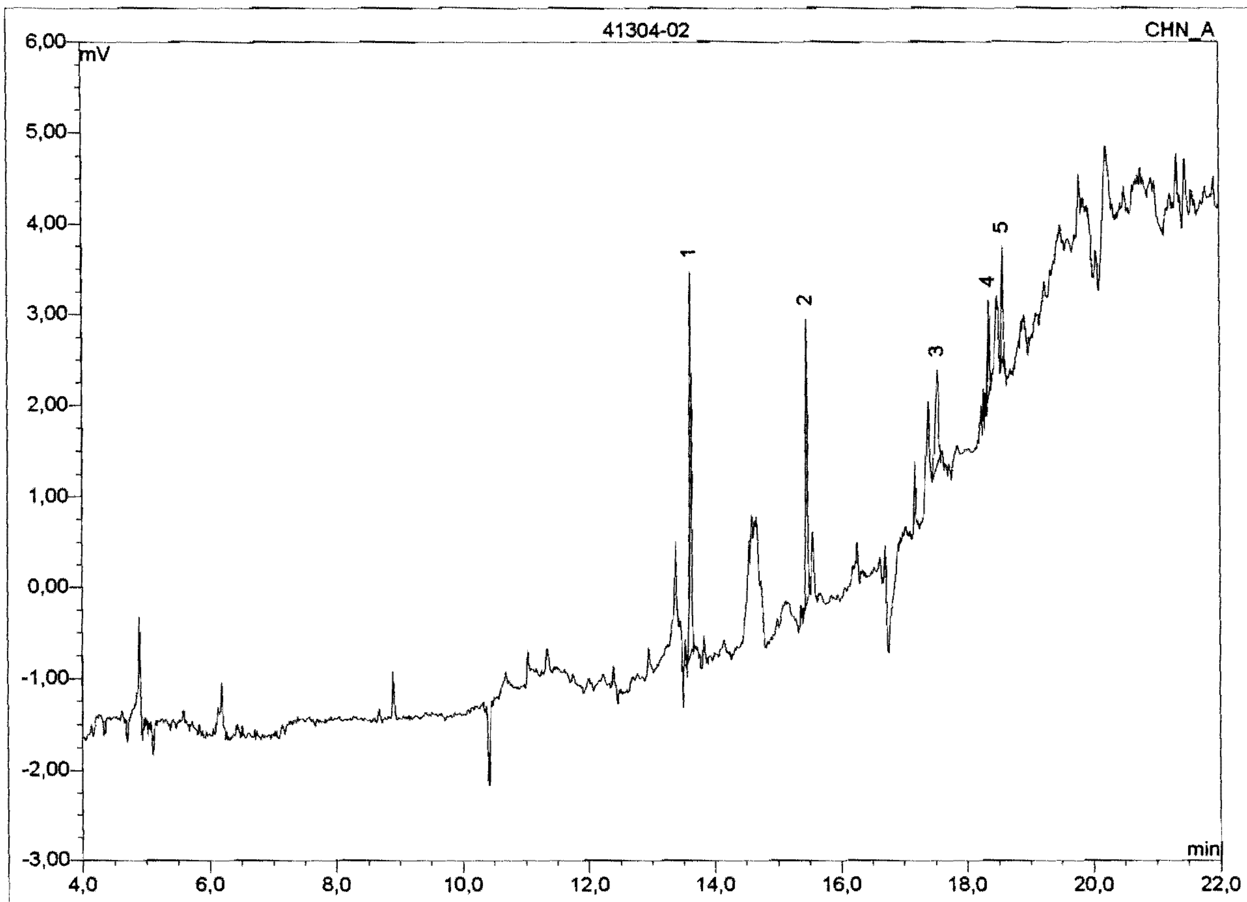


Spektrum 2

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-02 | **GC-Methode:** | 200 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11 | **Daten-Aufnahme:** | 07,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | **Einwaage:** | 50,0000 |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalt CHN_B | Gewählte Gehalte mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | 0,0000 |

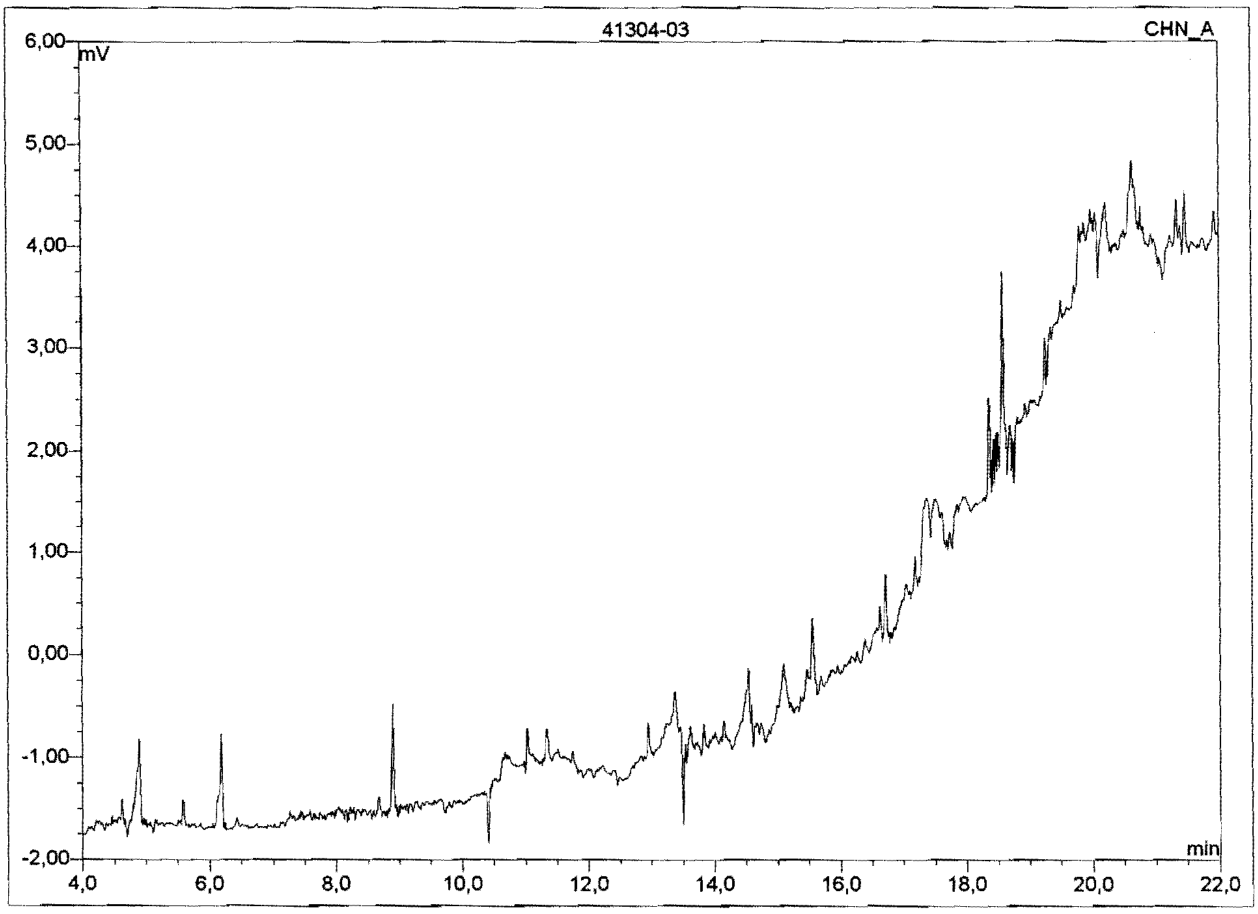


Spektrum 3

# Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-03 | **GC-Methode:** | 201 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11 | **Daten-Aufnahme:** | 07,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | **Einwaage:** | 50,0000 |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalt CHN_B | Gewählte Gehalte mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | 0,0000 |

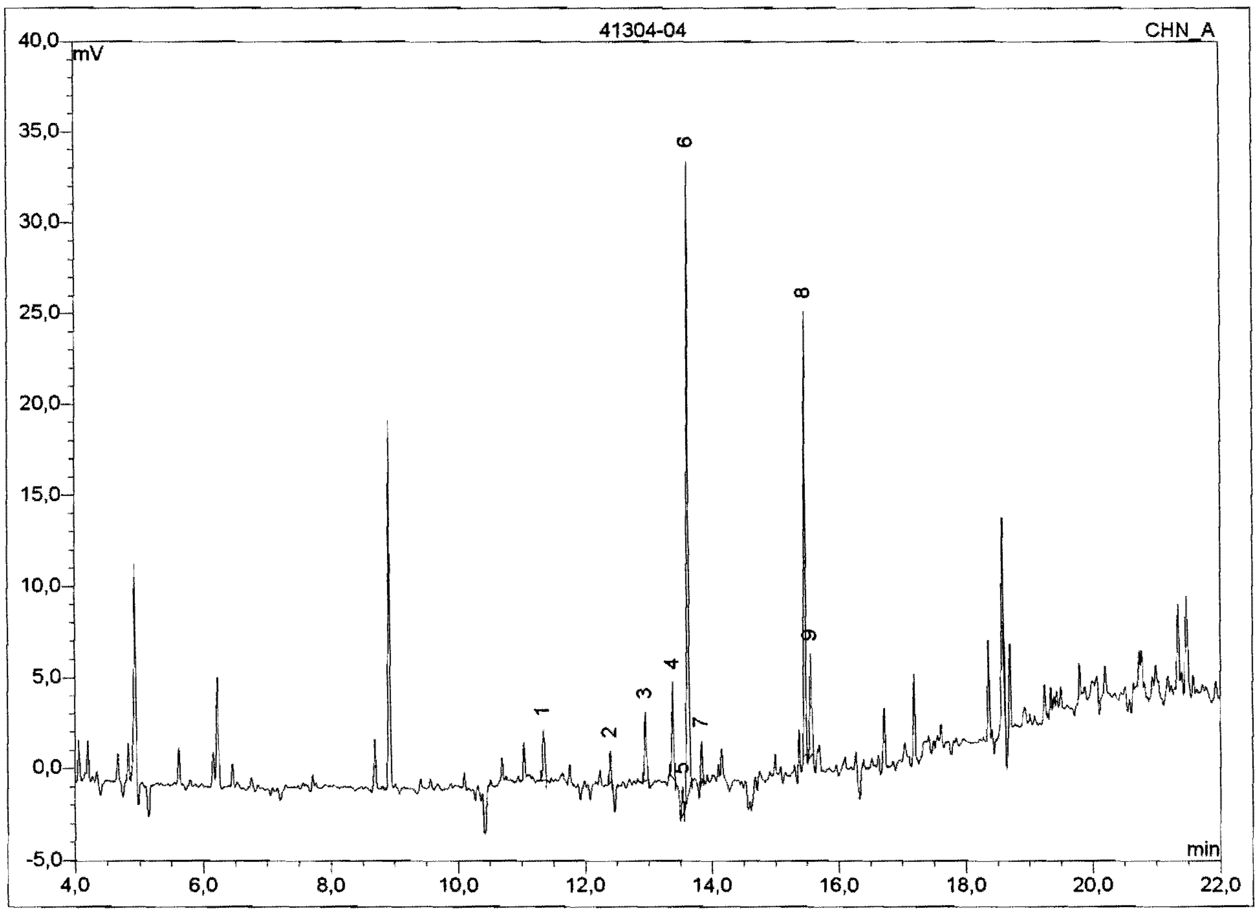


Spektrum 4

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-04 | **GC-Methode:** | 202 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11 | **Daten-Aufnahme:** | 07,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | **Einwaage:** | 50,0000 |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalt CHN_B | Gewählte Gehalte mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | 0,0000 |

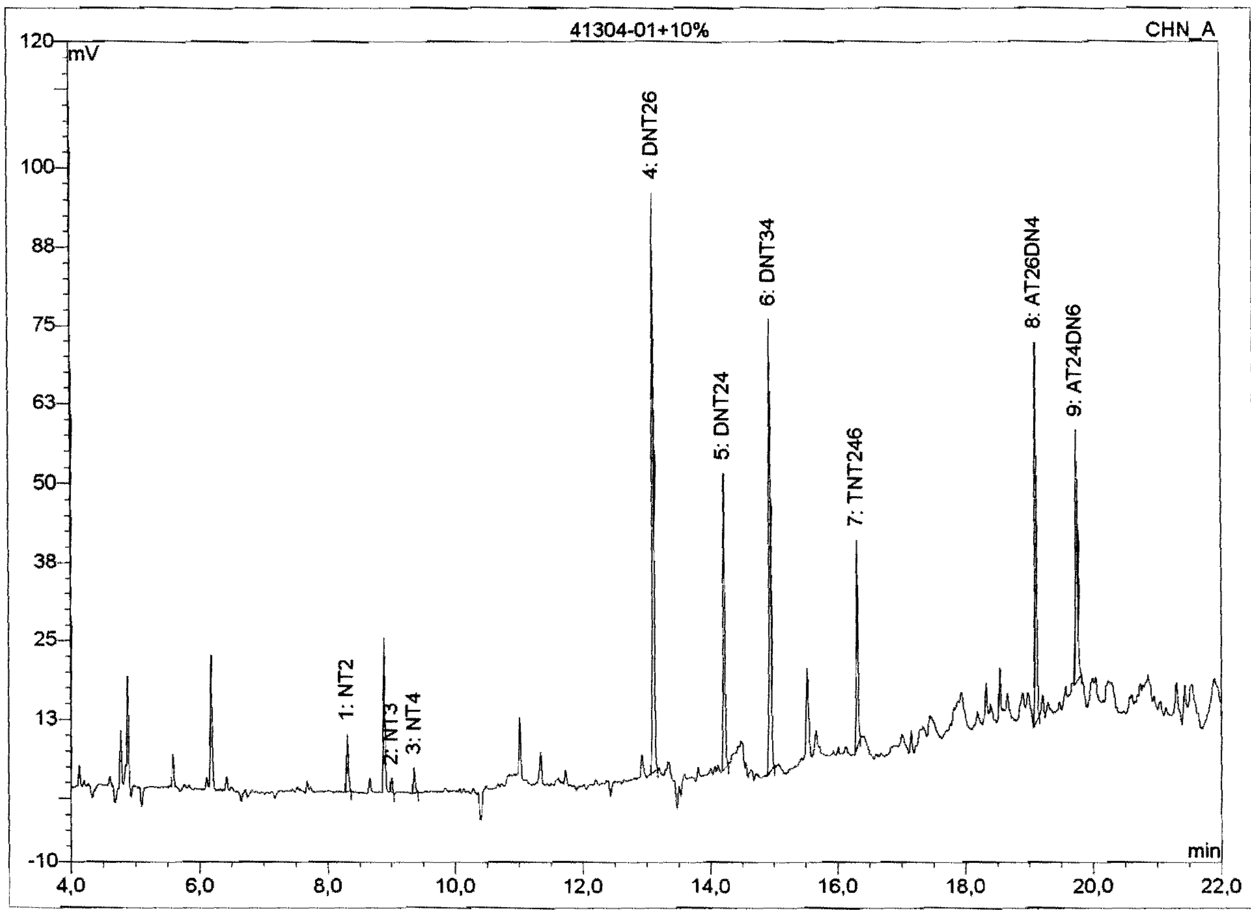


Spektrum 5

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-01+10% Std. 18 | **GC-Methode:** | 35 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11_C | **Daten-Aufnahme:** | 25,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | | |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalte µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | NT2 | n.a. | 8,31 | n.a. | 0,3668 | 0,3668 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | NT3 | n.a. | 9,00 | n.a. | 0,4405 | 0,4405 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | NT4 | n.a. | 9,35 | n.a. | 0,3628 | 0,3628 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | DNT26 | DNT26 | 13,11 | 12,48 | 0,1261 | 0,1261 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | DNT24 | DNT24 | 14,22 | 13,68 | 0,1294 | 0,1294 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | DNT34 | DNT34 | 14,94 | 15,02 | 0,1381 | 0,1381 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | TNT246 | TNT246 | 16,31 | 16,52 | 0,1218 | 0,1218 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | AT26DN4 | AT26DN4 | 19,11 | 19,89 | 0,2309 | 0,2309 |
| 41304-01+10% | CP9002_2 | 26,11,14 | AT24DN6 | AT24DN6 | 19,75 | 20,60 | 0,2258 | 0,2258 |



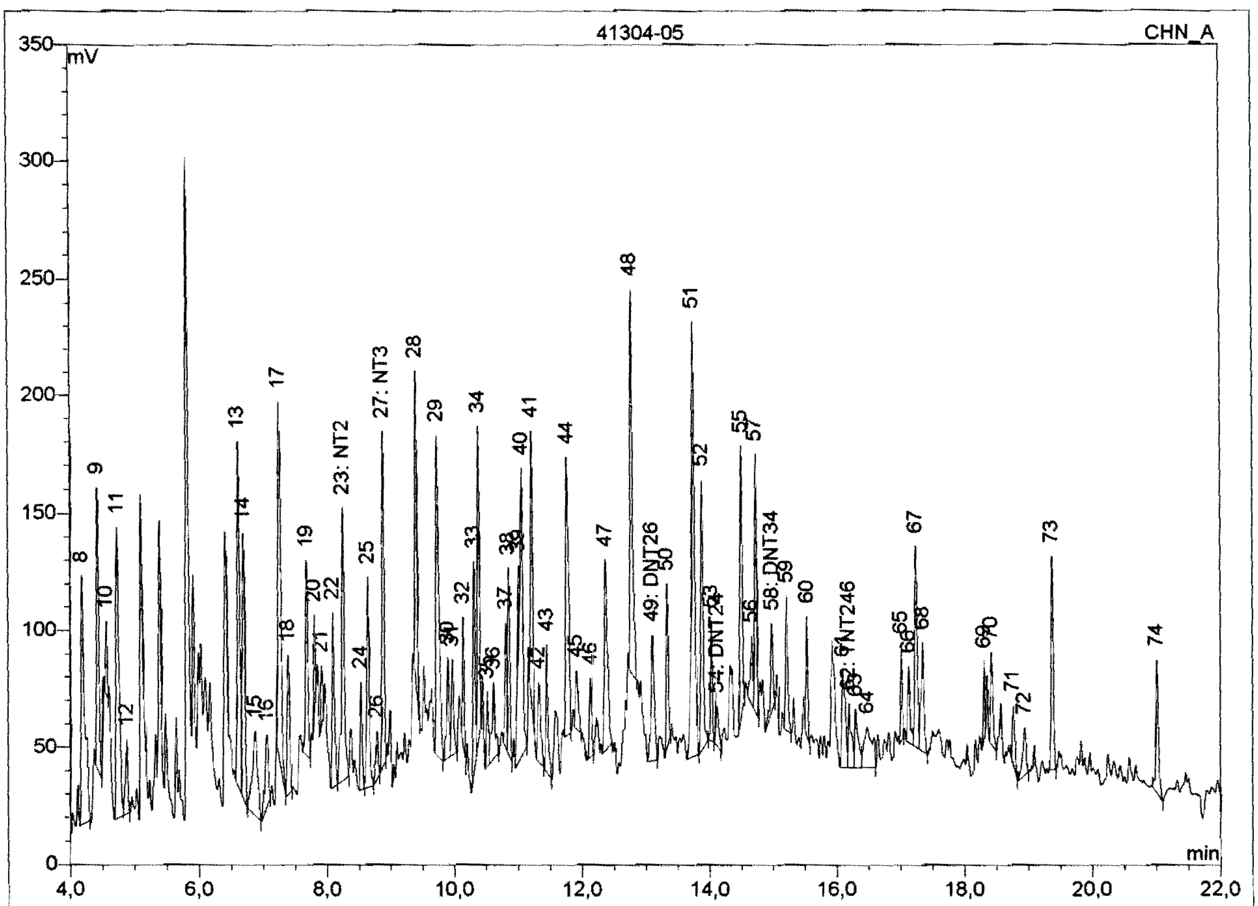
Spektrum 6

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-~~05~~03 | **GC-Methode:** | 252 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11_C | **Daten-Aufnahme:** | 25,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | | |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalte µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | NT2 | NT2 | 8,26 | 6,92 | 1,6242 | 1,6242 |
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | NT3 | NT3 | 8,88 | 7,57 | 5,1581 | 5,1581 |
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | DNT26 | DNT26 | 13,11 | 12,41 | 0,0476 | 0,0476 |
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | DNT24 | n.a. | 14,13 | n.a. | 0,0191 | 0,0191 |
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | DNT34 | DNT34 | 14,98 | 14,89 | 0,0278 | 0,0278 |
| 41304-05 | CP9002_2 | 22,12,14 | TNT246 | TNT246 | 16,19 | 16,45 | 0,0342 | 0,0342 |

} no Nitroaromatics but Matrix



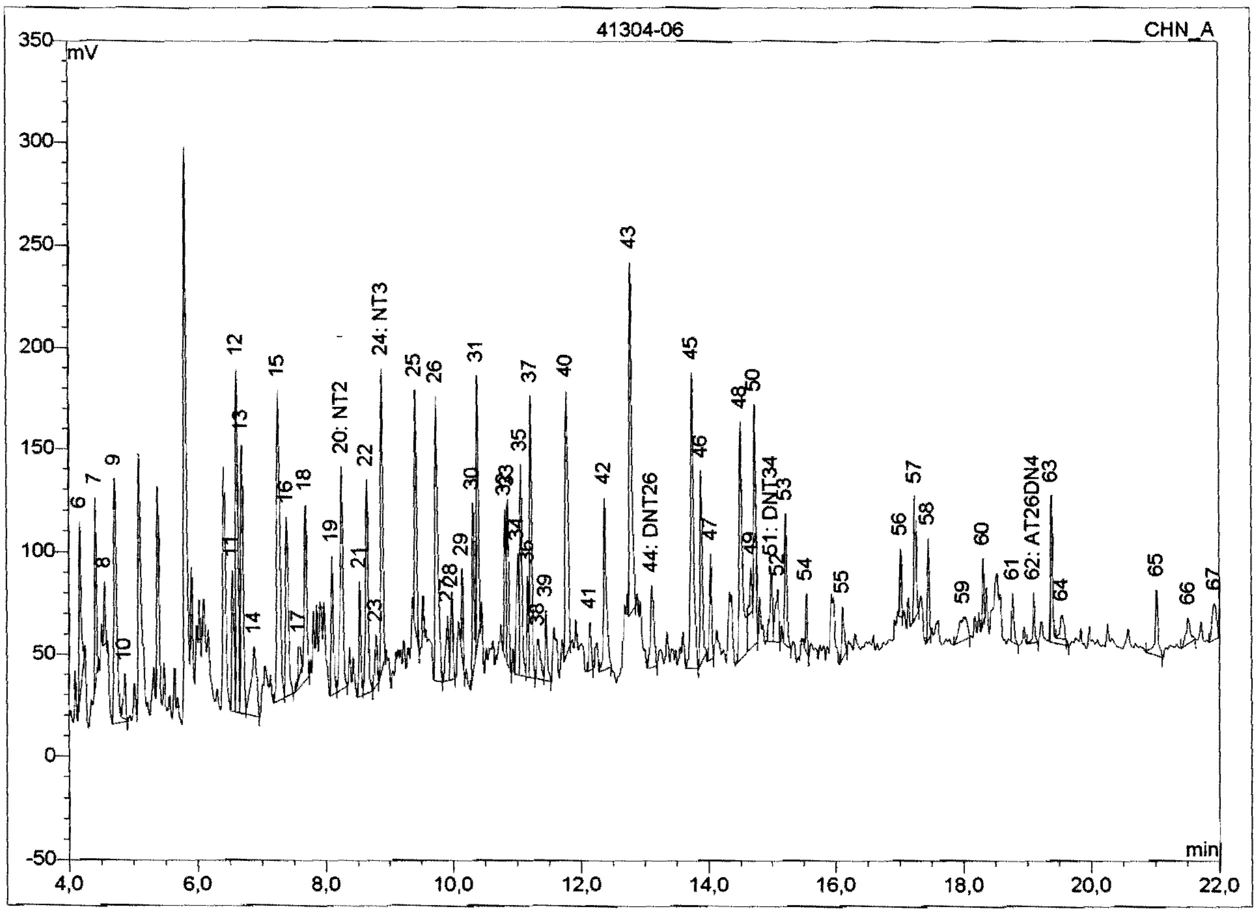
Spektrum 7

## Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-~~06~~ 10 | **GC-Methode:** | 253 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11_C | **Daten-Aufnahme:** | 25,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | | |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalte µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 41304-06 | CP9002_2 | 22,12,14 | NT2 | NT2 | 8,26 | 6,91 | 1,3735 | 1,3735 |
| 41304-06 | CP9002_2 | 22,12,14 | NT3 | NT3 | 8,88 | 7,56 | 5,3631 | 5,3631 |
| 41304-06 | CP9002_2 | 22,12,14 | DNT26 | n.a. | 13,12 | n.a. | 0,0373 | 0,0373 |
| 41304-06 | CP9002_2 | 22,12,14 | DNT34 | DNT34 | 14,99 | 14,89 | 0,0294 | 0,0294 |
| 41304-06 | CP9002_2 | 22,12,14 | AT26DN4 | n.a. | 19,11 | n.a. | 0,0278 | 0,0278 |

} Matrix



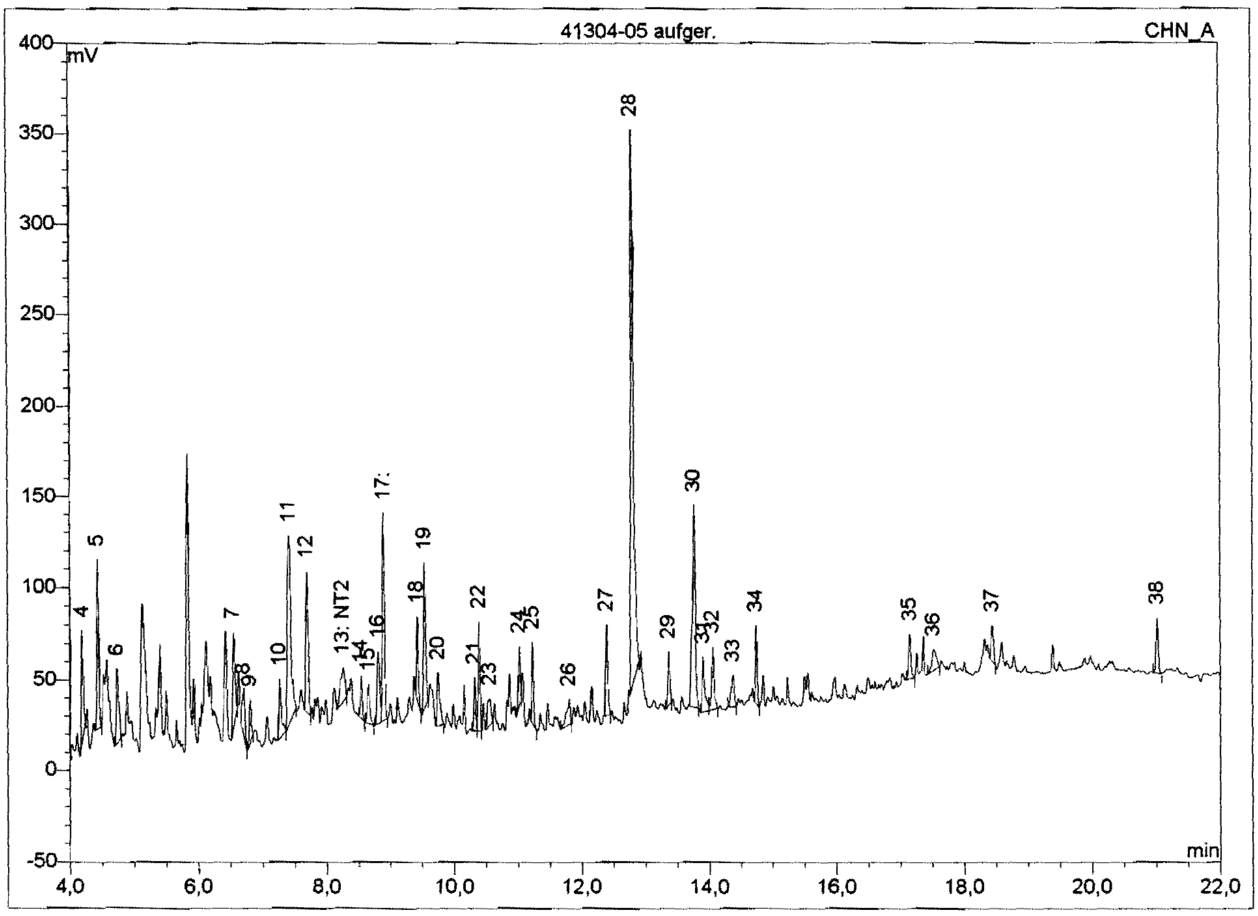
Spektrum 8

# Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-~~05~~ 03 aufger. | **GC-Methode:** | 255 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11_C | **Daten-Aufnahme:** | 25,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | | |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalte µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 41304-05 aufge | CP9002_2 | 09,01,15 | NT2 | NT2 | 8,26 | 6,84 | 0,3377 | 0,3377 |

u.o NT2



Spektrum 9

# Sample Analysis Report

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Sample Name:** | 41304-~~06~~ 10 aufger. | **GC-Methode:** | 256 |
| **Sequence Name:** | BODEN-14_11_C | **Daten-Aufnahme:** | 25,11,14 |
| **Programm-Methode:** | StA NA10 GC | **Bearbeiter:** | MB |
| **Quant. Methode:** | nit10 4-01 | **Verdünn. Faktor:** | 1,0000 |
| **Operator:** | MB | | |

| Probe-Nr. | GC | Datum | Analyt CHN_A | Analyt CHN_B | Ret.Zeit CHN_A min | Ret.Zeit CHN_B min | Gehalt CHN_A | Gehalte µg/ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 41304-06 aufge | CP9002_2 | 09,01,15 | NT2 | NT2 | 8,26 | 6,83 | 0,3305 | 0,3305 |

ub NT2

